

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DES ANÉMIES
provoquées chez le Lapin par le Digitonoside

2^e Thèse : Propositions données par la Faculté

T H È S E S

pour l'Obtention du Grade de DOCTEUR EN PHARMACIE
(*Diplôme d'État*)

présentées et soutenues publiquement, le 13 Mai 1964

par

H. P. RÉVEILLÈRE

Membres du Jury : Monsieur le Professeur M. PIETTE, *Président*
Mademoiselle le Professeur S. LAMBIN, *Examineur*
Monsieur le Professeur agrégé J. BORY, *Examineur*



PERSONNEL DE LA FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

M. G. VALETTE	<i>Doyen, O. ✱, C. 🌿</i>
M. M. M. JANOT	<i>Assesseur, O. ✱, C. 🌿</i>
M. P. MALANGEAU	<i>Assesseur, O. 🌿</i>
M. L. RODINEAU	<i>Secrétaire Général, ✱, O. 🌿</i>
M ^{me} S. FERRARI	<i>Attachée Principale, 🌿</i>
M. L. JEANDEL	<i>Attaché, O. 🌿</i>
M ^{lle} G. BIDEAU	<i>Secrétaire</i>
M ^{me} S. CERTAIN	<i>Secrétaire, O. 🌿</i>
M ^{me} M. COUSIN	<i>Secrétaire</i>
M. A. DROUILLY	<i>Secrétaire, O. 🌿</i>
M. M. L. ESPINASSE	<i>Secrétaire, O. 🌿</i>
M ^{lle} A. M. FAVERJON	<i>Secrétaire</i>
M. G. FROISSART	<i>Secrétaire, O. 🌿</i>

DOYEN HONORAIRE

M. R. FABRE	<i>Membre de l'Institut, C. ✱, C. 🌿</i> <i>Président de l'Académie de Médecine</i>
-------------------	---

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. M. DELEPINE	<i>Membre de l'Institut, C. ✱, C. 🌿</i>
L. LAUNOY	<i>O. ✱, O. 🌿</i>
P. FLEURY	<i>O. ✱, C. 🌿</i>
M. MASCRE	<i>O. ✱, C. 🌿</i>
M. PICON	<i>O. ✱, O. 🌿</i>
C. BEDEL	<i>✱, O. 🌿</i>
R. FABRE	<i>Membre de l'Institut, C. ✱, C. 🌿</i> <i>Président de l'Académie de Médecine</i>

PROFESSEURS

MM. M. M. JANOT, O. ✱, C. ☼ ..	<i>Pharmacie galénique (T)</i>
G. VALETTE, O. ✱, C. ☼ ...	<i>Pharmacodynamie (T)</i>
R. PARIS, ✱, O. ☼	<i>Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale (T)</i>
M. GUILLOT, ✱, O. ☼	<i>Physique (T)</i>
J.A. GAUTIER, ✱, O. ☼	<i>Chimie organique (T)</i>
M ^{re} S. LAMBIN, ✱, O. ☼	<i>Microbiologie (T)</i>
MM. Y. RAOUL ✱, O. ☼	<i>Physiologie (T)</i>
J. COURTOIS, ✱, O. ☼	<i>Chimie biologique (T)</i>
L. DOMANGE, ✱, O. ☼	<i>Chimie minérale (T)</i>
P. CRETE, ✱, O. ☼	<i>Botanique (T)</i>
R. TRUHAUT, O. ✱, O. ☼ ..	<i>Toxicologie et Hygiène industrielle (T)</i>
A. MORETTE, ✱, O. ☼	<i>Hydrologie (T)</i>
R. CAVIER, O. ☼	<i>Parasitologie (T)</i>
A. QUEVAUVILLER, O. ☼ ..	<i>Hygiène et Education sanitaire (T)</i>
R. MOREAU, ✱, O. ☼	<i>Pharmacie chimique (T)</i>
J. GUY, O. ☼	<i>Mathématiques appliquées aux sciences physiques et biologiques (T)</i>
A. CERMAN, O. ☼	<i>Virologie et Sérologie (T)</i>
M. PIETTE, ✱, O. ☼	<i>Biologie sanguine (T)</i>
P. MALANGEAU, O. ☼	<i>Chimie analytique (T)</i>
M. GIRARD, O. ☼	<i>Chimie appliquée à l'expertise (T)</i>
G. DILLEMANN	<i>Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T)</i>
G. DEYSSON, O. ☼	<i>Cytologie végétale (T)</i>
J. FLAHAUT	<i>Minéralogie (T)</i>
A. LE HIR	<i>Pharmacie galénique</i>
J. RENAULT, ☼	<i>Chimie organique</i>
C. BOUDENE	<i>Toxicologie et Hygiène industrielle (T)</i>
P. LARUELLE	<i>Physique</i>
P. ROSSIGNOL	<i>Pharmacodynamie</i>
A. MANGEOT, O. ☼	<i>Pharmacie galénique industrielle</i>
P. DELAVEAU	<i>Matière médicale</i>

MAITRES DE CONFERENCES

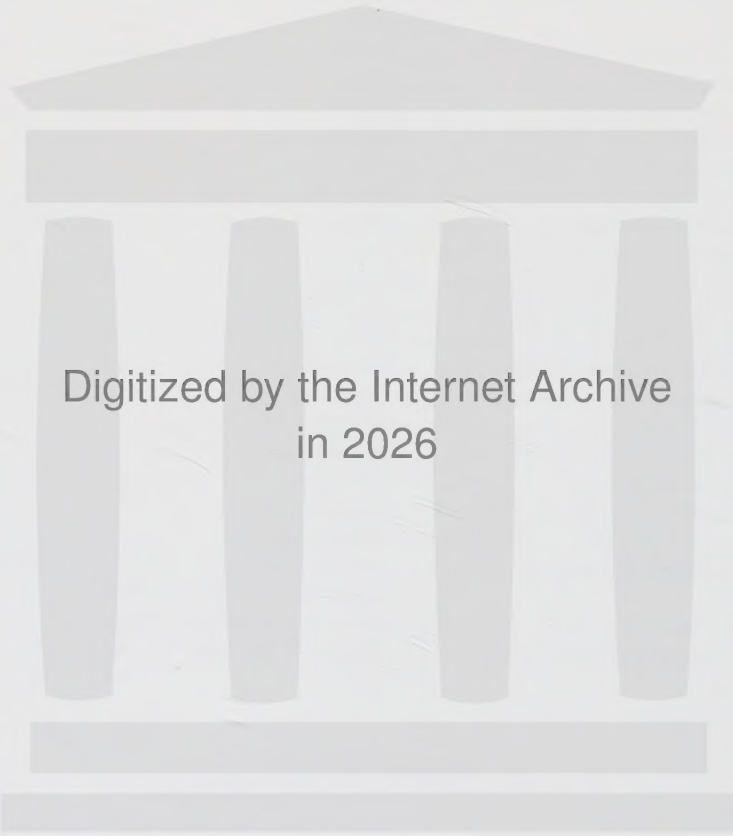
MM. R. BOURDON	<i>Chimie analytique</i>
Y. COHEN	<i>Sciences naturelles</i>
G. LE MOAN ..	<i>Sciences appliquées</i>
H. RENAULT, O. ☼	<i>Pharmacie chimique</i>
C. PAOLETTI	<i>Sciences appliquées</i>
P. REYNAUD	<i>Sciences physico-chimiques</i>
J. POISSON	<i>Sciences naturelles</i>
A. DESVIGNES, ☼	<i>Cryptogamie et technique bactériologique</i>
F. PERCHERON	<i>Sciences appliquées</i>
J. SAYEL	<i>Biologie animale</i>
J. BORY	<i>Sciences naturelles</i>

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM. P. BINET	<i>Parasitologie</i>
A. CARLIER (FF)	<i>Pharmacie galénique industrielle</i>
A. CAVE	<i>Pharmacotechnie</i>
P. CORRIEZ, O. ☼	<i>Physique</i>
C. DREUX (FF)	<i>Electrochimie appliquée à l'analyse</i>
P. GESTEAU, ✱, O. ☼	<i>Physique biologique</i>
J. C. GOUNELLE	<i>Analyse appliquée au contrôle des médicaments (section biologique)</i>
H. GUERIN, ✱, O. ☼	<i>Micrographie (3^e année), Essais des drogues végétales</i>
J. HARISPE, O. ☼	<i>Chimie générale et pharmaceutique</i>
J. HENRY	<i>Chimie (4^e année)</i>
M ^{mc} J. HUBERT	<i>Microbiologie</i>
M ^{lle} Y. JUND (FF)	<i>Microbiologie</i>
M ^{mc} N. LEGER (FF)	<i>Parasitologie</i>
MM. R. LELUC	<i>Microbiologie</i>
A. IEMONNIER	<i>Chimie analytique (2^e et 3^e années)</i>
M ^{sc} M. LOISEAU (FF)	<i>Chimie (4^e année)</i>
M ^{lle} S. LONGUEVALLE, O. ☼ ..	<i>Service des examens de chimie</i>
M. J. MANDEREAU (FF)	<i>Pharmacotechnie</i>
M ^{lle} H. MORIN, O. ☼	<i>Pharmacodynamie</i>
MM. NGUYEN PHU LICH (FF) ..	<i>Toxicologie</i>
F. PELLERIN	<i>Chimie analytique (2^e et 3^e années)</i>
R. PERLES	<i>Chimie biologique</i>
P. POUILLAIN	<i>Hématologie</i>
M ^{mc} M. ROBERT	<i>Sérologie</i>
M ^{lle} A. ROLLEN, ✱, O. ☼	<i>Biologie végétale</i>
M ^{mc} N. SALES (FF)	<i>Biologie animale</i>
M ^{lle} L. SEGUIN (FF), O. ☼.....	<i>Analyse appliquée au contrôle des médicaments (section physico-chimie)</i>
M ^{mc} M. SEILLER (FF)	<i>Pharmacie galénique industrielle</i>
M. J. YONGER (FF)	<i>Chimie analytique (1^{re} année)</i>

BIBLIOTHEQUE

M ^{lle} Y. RUYSSSEN, ✱, O. ☼	<i>Conservateur, chargée de la Direction</i>
M ^{lle} S. LAVAUD, ✱, O. ☼	<i>Conservateur</i>
M ^{mc} G. KREHMER, O. ☼	<i>Conservateur</i>
M ^{mc} A. DESGRIPPES, O. ☼	<i>Bibliothécaire</i>



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Henri-Pierre RÉVEILLÈRE

*Diplômé de Microbiologie, Sérologie, Hématologie et Parasitologie
Lauréat de Chimie Biologique appliquée
et de Biochimie pharmaceutique et technique (Faculté de Paris)
Assistant de Pharmacie Galénique à la Faculté de Nantes*

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DES ANÉMIES
provoquées chez le Lapin par le Digitonoside

A MON PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR PIETTE

*Professeur de Biologie Sanguine
à la Faculté de Pharmacie de Paris*

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse, hommage de mon profond respect. Je tiens à lui exprimer ma reconnaissance pour la bienveillance constante qu'il m'a témoignée en toutes circonstances et pour les conseils éclairés qu'il m'a prodigués pour l'élaboration de ce travail dont il a bien voulu me suggérer le sujet et me fournir les éléments.

A MADEMOISELLE LE PROFESSEUR LAMBIN

*Titulaire de la Chaire de Microbiologie
de la Faculté de Pharmacie de Paris*

Qui m'a guidé dans mes études et m'a toujours témoigné beaucoup de sollicitude, j'adresse l'hommage de mon profond respect et je l'assure de mon entier dévouement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BORY

*Maître de conférences Agrégé
à la Faculté de Pharmacie de Paris*

Qui a bien voulu faire partie du jury de notre thèse. Qu'il trouve ici l'expression de mes remerciements et de ma reconnaissance.

A TOUS MES MAITRES
de la Faculté de Paris

dont je n'oublierai jamais l'enseignement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LE POLLÈS
*Titulaire de la Chaire de Pharmacie Galénique
de la Faculté Mixte de Médecine
et de Pharmacie de Nantes*

Hommage de respectueuse reconnaissance pour l'extrême
sollicitude qu'il nous a toujours témoignée.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BOQUIEN
*Doyen de la Faculté Mixte de Médecine
et de Pharmacie de Nantes*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MONNET
*Titulaire de la Chaire de Matière Médicale
et de Pharmacologie*

Hommage de mon profond respect.

A MESSIEURS LES PROFESSEURS
LOSSOUARN
Titulaire de la Chaire de Chimie Pharmaceutique
STEPHAN
*Titulaire de la Chaire de Pharmacodynamie
et de Chimie Biologique Pharmaceutique*

Mes premiers Maîtres en Pharmacie. En témoignage
de ma reconnaissance et de mon respectueux dévouement.

A MESSIEURS LES PROFESSEURS
PLOQUIN
Titulaire de la Chaire de Pharmacie Chimique
FOUCAUD
Titulaire de la Chaire de Botanique

Hommage de mon profond respect.

A MONSIEUR LE DOCTEUR BERNARD
A MONSIEUR LE DOCTEUR BOREL
Maîtres de conférences — Agrégés

En témoignage de gratitude pour l'année passée au
laboratoire de Biochimie Médicale de la Faculté de Nantes comme
délégué aux fonctions de chef de travaux.

A LA MEMOIRE VENEREE DE MON PERE

A MA MERE

Dont la vie de travail et de dévouement a toujours été pour moi le meilleur des exemples. Qu'elle veuille trouver ici la marque de mon profond amour filial.

A MA FEMME

Dont les sacrifices et la haute compréhension m'ont permis de poursuivre ce travail. Qu'elle veuille trouver ici l'expression de mon profond attachement.

A MES ENFANTS

Avec toute mon affection.

A TOUS LES MIENS

A TOUS CEUX qui m'ont aidé, qui m'ont encouragé, je dois d'avoir pu mener à bien ma tâche. Je les prie de croire à ma reconnaissance.

ABREVIATIONS ET SYNONYMES

s : écart type ou déviation standard

M (moyenne arithmétique
m (

Ht : hématies

Hb : hémoglobine

r = indice de corrélation

H = résistance globulaire moyenne à l'hypotonie

D = Diamètre moyen des hématies d'un lapin normal

N. B. — Les formules des réactifs sont présentées en tenant compte des indications suivies dans la rédaction des monographies de la Pharmacopée Française (115).

INTRODUCTION

De nombreux composés chimiques peuvent être utilisés pour créer des anémies expérimentales : la phénylhydrazine, ainsi que ses dérivés, et les saponines sont sans doute les plus employés. Nous avons choisi le digitonoside.

Le digitonoside est une saponine, de nature glucosidique, utilisée depuis longtemps en Hématologie. C'est un agent hémolytique qui provoque « in vitro » la sphération des érythrocytes, puis leur gonflement et leur hémolyse. Ce phénomène, observé pour la première fois par HAMBURGER, (*) a été étudié depuis par de nombreux auteurs (124).

« In vivo », ce glucoside ne semble pas avoir fait l'objet de nombreux travaux. Tous les auteurs dont nous connaissons les recherches sur l'action des saponines sur l'organisme ont employé trois saponines de MERK : la saponine, la sapotoxine et la cyclamine. Nous avons préféré le digitonoside, parce que c'est la substance la mieux caractérisée du groupe, selon LEULIER et REVOL (94) ; la formule probable est $C_{56}H_{92}O_{29}$. Nous avons utilisé le digitonoside UCLAF.

Dans les généralités du début, nous résumons l'action connue des saponines sur le sang et sur la moelle osseuse, ainsi que les modes de prélèvement et d'injection que nous utilisons.

Nous divisons ensuite notre travail en deux parties. La première est consacrée aux techniques proprement dites. Nous décrivons brièvement les méthodes hématologiques classiques de numération qui n'ont pas fait l'objet de notre part d'un travail personnel. Nous recherchons au moyen de ces techniques si la destruction des érythrocytes par le digitonoside entraîne une variation du nombre des réticulocytes, des sidérocytes et des hématies à granulations basophiles ; après cette vérification, des méthodes récentes nous permettent de dénombrer les éléments de la moelle osseuse après la mort de l'animal, en particulier les sidéroblastes. Nous confirmons enfin par ces méthodes l'action du digitonoside sur la lignée blanche et les plaquette sanguines.

Nous décrivons assez longuement les techniques que nous proposons pour la numération globulaire et la mesure du diamètre érythrocytaire ; à la fin de cette dernière étude nous relatons les expériences faites sur le sang humain normal, afin de comparer nos résultats à ceux qui sont trouvés par les autres méthodes. L'expérience animale seule n'aurait pas été satisfaisante, les résultats publiés pour le diamètre érythrocytaire chez le lapin allant de 6 à 7 microns suivant

(*) Cité par CAZAL (36).

les auteurs. Nous détaillons aussi les tests de résistance globulaire, en particulier celui de fragilité osmotique, que nous avons largement employé au cours de nos expériences.

La seconde partie est consacrée à l'expérimentation proprement dite. Dans un chapitre préliminaire nous déterminons les moyennes obtenues chez les animaux témoins et nous les comparons dans un tableau aux résultats déjà publiés. Nous sélectionnons, pour notre travail, les lapins dont les bilans hématologiques se rapprochent le plus des valeurs normales ainsi établies.

Comme nous l'avons déjà souligné, les valeurs proposées pour le diamètre du globule rouge du lapin sont très diverses, la mesure exacte des diamètres exigeant la mise en œuvre de techniques qui ne sont pas toujours courantes.

L'établissement d'une courbe précise de Price Jones demande en effet plusieurs heures d'un travail délicat si l'on veut s'assurer d'un chiffre le plus exact possible. Des calculs assez longs permettent ensuite de déduire, de la courbe expérimentale, plusieurs paramètres (moyenne et écart type) et de calculer les deux équations qui donnent la possibilité de tracer avec précision la courbe théorique correspondante. Une expérience bien conduite aboutit ainsi à des résultats reproductibles et doués d'une valeur absolue, comme nous avons pu le vérifier, mais au prix d'un effort incompatible avec un travail courant.

Nous avons fait un usage assez large du calcul statistique pour l'étude des érythrocytes : tous les individus sont semblables et normalement leurs dimensions sont réparties autour d'une moyenne selon les lois du hasard. La « Biométrie érythrocytaire » permet donc l'exploration de l'« érythron », mot proposé en 1929 par BOYCOTT et qui souligne, comme le remarque WITTS (152) l'unité fonctionnelle des globules rouges et de leurs précurseurs. On explore, par suite, la moelle osseuse qui assure la stabilité de cet organe.

Nous avons pensé qu'il était préférable de séparer les résultats expérimentaux obtenus pour chaque animal en les commentant assez brièvement. Nous insistons tout particulièrement sur ceux qui ont été obtenus par l'application des méthodes proposées : variations de la résistance globulaire et du diamètre érythrocytaire au cours de l'anémie provoquée. Les réactions des différents animaux sont complexes ; nous verrons en effet que les injections de digitonoside, suivant la quantité de produit injecté, sont susceptibles de produire des effets opposés : diminution ou augmentation de la résistance globulaire et du diamètre érythrocytaire.

De ces phénomènes nous donnons des explications ; mais si les résultats, tirés d'expériences bien conduites, constituent des faits immuables et reproductibles, les interprétations que l'on peut tirer sont, par contre, beaucoup plus hypothétiques et fonction des connaissances du moment, par conséquent susceptibles d'évoluer.

GENERALITES

CHOIX DE L'ANIMAL D'EXPERIMENTATION

Selon J. BERNARD (10), de tous les animaux de laboratoire le rat est celui chez lequel les hémopathies expérimentales sont le plus aisément déclenchées.

WATSON et coll. (*) l'utilisent pour essayer de reproduire l'anémie pernicieuse. On sait que l'étude expérimentale de la pathogénie de l'anémie de Biermer est extrêmement difficile et PLUM (122), travaillant le même sujet, reprend le même animal. Les prises de sang sont cependant difficiles et les valeurs normales du sang de rat sont extrêmement variables (54).

Pour étudier l'action de la saponine du cyclamen (cyclamine) sur l'intestin et le rein, KOBERT (**) choisit des chiens et des chats. Tous les autres auteurs que nous avons consultés et qui ont recherché l'action des saponines sur le système hématopoïétique ont employé le lapin. BUNTING (31) écrit qu'il le préfère du fait de la facilité des décomptes sanguins et aussi, ajoute-t-il, à cause de sa bonne connaissance des réactions sanguines de cet animal.

Nous avons, nous aussi, choisi le lapin à cause de la facilité des prises de sang ; de plus le volume sanguin relativement important de cet animal permet des prélèvements fréquents pour examen hématologique sans réponse des organes hématopoïétiques. Son élevage est facile et ne demande pas de précautions particulières. Enfin il ne présente pas de difficulté hématologique spéciale.

EFFET CONNU DES SAPONINES SUR LE SANG ET SUR LA MOELLE OSSEUSE

In « vivo », les saponines ont une action sur les trois lignées sanguines et une étude générale, basée sur de nombreuses références, a été effectuée par KAGAN (87) en ce qui concerne particulièrement la lignée rouge et le protocole d'injection.

Lignée rouge :

BUNTING (31) constate en 1909 qu'une dose unique de cinq milligrammes de saponine par voie intraveineuse peut entraîner la mort d'un lapin le second jour qui suit l'injection ; dans cette expérience les hématies du sang périphérique tombent de 6 696 000 à 3 336 000 en vingt-quatre heures. L'auteur note aussi l'existence d'une érythroblastose sanguine.

(*) Cités par PLUM (122).

(**) Cité par KAGAN (87).

En 1912, PAPPENHEIM et SZECSI (116) confirment l'apparition des normoblastes dans le sang périphérique et précisent qu'avec des doses moyennes de un à quatre milligrammes de saponine MERK, les normoblastes sont petits et la plupart du temps pycnotiques, avec protoplasme polychromatophile.

ISAAC et MOCKEL (cités par KAGAN, 87) ont avancé que des injections répétées de trois dixièmes de milligrammes de saponine provoquent une forte mégaloctose et mégaloctose avec métaplasie leucémique de la rate et des foyers myéloïdes typiques des capillaires du foie.

PAPPENHEIM et SZECSI (cités par KAGAN, 87) pensent que les grands érythroblastos ne sont nullement des mégaloblastos mais seulement des macroblastos, venus dans le sang par suite de l'« irritation » de la moelle osseuse. Il s'agirait donc d'une érythroblastose de répulsion n'ayant aucune valeur régénérative.

Avec la saponine MERK, HANDRICK (cité par KAGAN, 87) décrit de la macroctose et de la microctose dans le sang périphérique d'un animal, mais PAPPENHEIM et SZECSI ne retrouvent ni microctos, ni anisocctose marqués.

Lignée blanche :

L'action des saponines sur les globules blancs est assez variable. Dans l'expérience précitée de BUNTING (31), les leucocytes augmentent de 16 750 à 45 000, alors que chez un autre lapin une dose unique de quatre milligrammes provoque une diminution progressive des leucocytes de 16 875 à 7 000 en treize jours.

PAPPENHEIM et SZECSI (116) constatent de leur côté qu'une dose suffisamment forte de saponine provoque l'apparition de « leucoblastos » et qu'après une destruction massive, on relève toujours une leucocctose sanguine avec apparition de nombreuses « cellules de Rieder » (leucocctose toxique).

Lignée plaquettaire :

Les plaquettes sont détruites par les saponines : leur nombre diminue de 800 000 à 120 000 à la suite d'une dose unique de cinq milligrammes de saponine et BUNTING (31) montre que la destruction primitive des plaquettes est suivie d'une régénération hyperplasique, produisant une thrombocctose comparable à la leucocctose ; il précise toutefois que la courbe de régénération des thrombocytes n'est pas parallèle à celle des hématies ou à celle des leucocytes.

Moelle osseuse :

Dans la moelle osseuse, les mégacaryocytes augmentent en nombre, mais ils se réduisent à une masse nucléaire après séparation de pseudopodes protoplasmiques de tailles variées. Tous les autres éléments augmentent aussi en nombre et ISAAC et MOCKEL constatent, comme plus tard HANDRICK (cité par KAGAN, 87), une forte hyperplasie médullaire par hypertrophie fonctionnelle.

Cholestérol :

En plus de l'hyperthrophie fonctionnelle de la moelle et de la régénération extramédullaire par métaplasie, l'organisme lutte contre

l'anémie en protégeant ses érythrocytes contre de nouvelles injections du toxique. KAGAN (87) remarque que la résistance des érythrocytes dépend du rapport lécithine/cholestérol qui se trouvent dans les globules rouges du sang ; plus le cholestérol est abondant dans le stroma des globules rouges, puis l'érythrocyte est protégé, les hématies enrobées de cholestérol plasmatique échappant à l'action de la saponine.

MODE D'INJECTION

PAPPENHEIM et SZECSI (116) ont montré que la saponine injectée par voie intrapéritonéale est plus active que par voie intraveineuse. Quand une dose suffisamment forte par injection intraveineuse provoque l'apparition de « leucoblastes » dans le sang, elle a déjà un effet léthal par injection intrapéritonéale.

On constate aussi que des doses de 1 à 4 mg de saponine par voie intraveineuse produisent de l'érythroblastose sanguine.

Les injections sous cutanées provoquent une altération moins accentuée aux doses quotidiennes de 1 à 5 mg, il n'y a aucune érythroblastose ni modification morphologique. HANDRICK étudiant la résistance des érythrocytes à diverses agressions ne trouve qu'une diminution faible de la résistance minimale, la résistance maximale se situant dans les limites normales. Bien que la cyclamine, saponine retirée du cyclamen, soit la plus active des saponines sur le globule rouge (KUNKEL) (*), on ne trouve guère, après des doses quotidiennes de 2 à 5 mg pendant 12 jours qu'un faible indice d'anisocytose et d'érythroblastose.

On peut encore employer la voie intramusculaire ; c'est la technique qu'utilisent GORDON et coll. (cités par BENARD et coll. 9 bis) pour préparer du sérum hématopoïétique, en injectant tous les jours au lapin adulte un millilitre d'une solution d'acétate de phénylhydrazine à 2,5 p. 100, ce qui les conduit en général à une anémie de 1 000 000 de globules rouges en sept jours.

En conclusion, la voie sous cutanée ne conduit à aucune érythroblastose ni modification morphologique et la voie intrapéritonéale s'avère trop brutale. Aussi nous avons choisi généralement la voie intraveineuse ; cependant nous avons dû parfois avoir recours à la voie intramusculaire quand les veines des animaux expérimentés devenaient difficilement accessibles.

Pour obtenir une anémie réversible par voie intraveineuse, HINDEMITH, HELMUT et MULLER (78) emploient, chez le lapin, de 0,50 à 0,75 milligrammes de saponine par kilogramme d'animal. Ils constatent qu'après administration répétée de saponine, les animaux deviennent moins sensibles à cette substance et que par ailleurs l'injection d'argent colloïdal hâte la régénération sanguine.

En ce qui nous concerne, nous basant sur ces données, nous avons conduit nos expériences avec des doses répétées de 0,75 mg de digitoninose par kilogramme de poids corporel.

(*) Cité par KAGAN (87).

PREPARATION DU SOLUTE INJECTABLE

(Digitonoside	100 mg (0,100 g)
(Sol. aq. isotonique de chlorure de sodium à 9 g/l	60 ml

La solution ainsi préparée correspond sensiblement à la saturation. Elle est trouble à froid mais devient parfaitement liquide lors de la stérilisation par tyndallisation. On la conserve au réfrigérateur à $+ 4^{\circ}$.

Cette solution répond à deux impératifs :

1/ Il est fait usage d'une solution saturée de façon à réduire le volume injecté à environ deux millilitres, quantité qui peut être mesurée avec précision et qui n'occasionne pas de trouble de l'hémodynamique.

2/ Par ailleurs le digitonoside est très peu soluble dans l'eau : une partie pour six cents (94).

PROTOCOLE D'INJECTION

On fait d'abord un prélèvement de sang dans la veine marginale de l'oreille du lapin au moyen d'une aiguille de 7/10 de millimètre de diamètre dans le but d'établir un bilan hématologique de référence qui servira par la suite à apprécier les modalités de la progression de l'anémie.

On introduit ensuite cette même aiguille dans la veine au point de piqûre fait lors de ce prélèvement ; on fixe la seringue et l'on injecte lentement (environ 1 minute) le soluté de digitonoside. Une injection trop rapide peut en effet entraîner la mort par embolie, comme nous l'avons vérifié.

L'expérience nous montre qu'il est nécessaire d'injecter ensuite deux millilitres de soluté isotonique de chlorure de sodium afin de maintenir les vaisseaux dans le meilleur état possible. Pour ce faire, il suffit de laisser l'aiguille en place et de prendre une seconde seringue préparée au préalable.

Malgré les précautions prises, les solutions de digitonoside provoquent souvent un œdème sur le trajet auriculaire qu'emprunte le produit, voire même légèrement au delà. Après un certain nombre d'injections, il est parfois impossible de recourir à la veine marginale. On doit alors choisir une autre veine, ce qui s'avère parfois délicat.

Il peut arriver que l'oreille prenne une teinte violacée, augmente de volume, devienne lourde et chaude, avec gangrène comme complication possible : elle se dessèche et tombe en partie. Ce sont ces faits qui nous ont conduits à faire suivre l'injection de digitonoside d'une autre de soluté isotonique de chlorure de sodium. Les résultats, sans être toujours excellents, sont du moins nettement améliorés.

(*) Cité par KAGAN (37).

TECHNIQUE DE PRELEVEMENT

Contention des animaux

Les lapins sont placés dans une boîte en bois rectangulaire fermée par un couvercle à glissière : à l'une de ses extrémités, le couvercle présente une échancrure épousant la forme du cou sans le comprimer, ce qui permet d'immobiliser la tête à l'extérieur.

Réactifs utilisés

- 1/ Solution aqueuse de monosulfure de sodium à 36 g p. 100 ml (32)
- 2/ Alcool à 90°
- 3/ Solution d'héparine.

Solution mère :

- (Héparine 20 mg (0,020 g)
- (Eau distillée XX gouttes

Dissoudre et distribuer dans 20 tubes à hémolyse (une goutte par tube).

Evaporer à l'étuve à 37°.

Chaque tube correspond à 1 mg d'héparine.

Solution fille :

- (Tube précédent correspondant à 1 mg d'héparine N° 1
- (Eau distillée X gouttes

Dissoudre et distribuer dans 10 tubes à hémolyse (une goutte par tube).

Evaporer à l'étuve à 37°.

Chaque tube correspond à 0,1 mg d'héparine.

Les tubes de 1 mg correspondent à un prélèvement de 5 ml de sang ; les tubes de 0,1 mg servent pour les prélèvements de l'ordre de 0,5 ml de sang.

Epilation :

Couper les poils avec des ciseaux ; épiler ensuite avec la solution de monosulfure, en frottant légèrement avec un coton, pendant une vingtaine de secondes ; rincer la peau à grande eau pour enlever toute trace de monosulfure, afin d'arrêter l'action caustique du liquide épilatoire. Essuyer avec précaution. La peau reste glabre plusieurs semaines et cette opération n'a pas à être renouvelée.

Prise de sang

Désinfecter à l'alcool à 90° — Sécher.

Piquer la veine marginale de l'oreille avec l'aiguille et laisser celle-ci 3 à 5 secondes ; dilater la veine par pression modérée à la base et diriger l'aiguille vers la tête de l'animal. Enlever l'aiguille en maintenant la pression pour avoir une quantité de sang suffisante.

Aspirer le sang avec une pipette Pasteur courte munie d'un tube de caoutchouc ; le verser dans un tube à hémolyse hépariné (on dépose le sang au fond du tube en évitant les parois). Agiter le tube quelques minutes à la main.

Il arrive parfois qu'à la suite de prélèvements antérieurs, la circulation veineuse soit ralentie et même arrêtée dans certaines veines. Ce phénomène est surtout fréquent chez les lapins qui ont reçu un certain nombre d'injections de solution de digitonoside. Il est alors difficile, sinon impossible en fin d'expériences de trouver une veine en bon état. Il est nécessaire dans ce cas de laisser plusieurs gouttes de sang s'écouler de la piqûre sans le recueillir et d'attendre pour prélever qu'il ait sa couleur rouge normale.

Cette précaution évite les erreurs dues, comme nous le verrons dans une étude sur la résistance globulaire, à la surcharge des hématies en gaz carbonique.

La quantité de sang prélevée est de 2 ml environ au début des expériences.

— A partir de sang frais, on effectue :

1/ La numération directe des thrombocytes et des réticulocytes ;

2/ Huit frottis qui serviront à établir :

— La courbe de Price-Jones (diamètre)

— La formule leucocytaire

— Le pourcentage d'hématies à granulations basophiles

— Le pourcentage de sidérocytes.

— A partir de 2 ml de sang hépariné, on effectue :

— Le dosage d'hémoglobine

— La numération des hématies

— La numération des leucocytes

— La mesure de l'hématocrite

— Les mesures des résistances globulaires.

Le sang est conservé au réfrigérateur à $+ 4^{\circ}$ pour les examens qui ne sont pas faits immédiatement et il est agité par retournement au moment du besoin. Le bilan hématologique est établi au début de l'expérimentation. A la fin on y adjoint parfois :

— Le dosage du fer sérique

— Le dosage du cholestérol total

— Le dosage de l'urée.

Fréquence des prélèvements

Nous avons pratiqué peu d'examens au cours de l'expérimentation, car un bilan exige au moins deux millilitres de sang, ce qui représente une perte importante pour l'animal, si ces prélèvements sont fréquents. STODTMEISTER (143) rappelle en effet que la carence chronique en fer, due à des hémorragies chroniques, peut parfois déterminer l'apparition d'un syndrome érythromésenchymopathique de type hémolytique avec anémie grave, microcytique, hypochrome et ferrosensible. LAUDA (cité par S. DUVOLON, 54) interprète également la baisse progressive des érythrocytes qu'il observe parfois chez le rat comme le signe d'une anémie secondaire due à des prélèvements sanguins répétés en vue d'examens hématologiques.

Conditions du prélèvement

Pour éviter une autre cause d'erreur importante, nous laissons l'animal au moins trente minutes dans le laboratoire avant d'effectuer le prélèvement. ITELSON (79) estime qu'une émotion peut changer complètement l'aspect habituel du leucogramme. Il rappelle que l'on sait, grâce aux travaux de SELYE, que le stress provoqué par différents agents, même de nature psychique, donne naissance à une leucocytose neutrophile passagère provoquée par une hyperactivité brusque des surrénales. Il cite P. CHEVALLIER, qui attire l'attention sur le fait que le sang pris au début du choc contient un pourcentage très élevé de neutrophiles et que la leucopénie, décrite dans les livres classiques, ne se révèle que plus tard.

ITELSON (79) montre aussi, par ses expériences, qu'il faut examiner le sang dans des conditions strictement physiologiques et qu'il se produit une leucocytose importante chez les sujets trop longtemps à jeun ; il rapporte l'exemple d'un sujet qui n'a pas mangé à huit heures ; il possède alors 5 400 leucocytes par millimètre cube ; ce même sujet reste à jeun jusqu'à treize heures et une nouvelle numération donne 9 200 leucocytes par millimètre cube. Nous référant à ces expériences, nos animaux mangent normalement le jour des prélèvements.

En conclusion, la nourriture est apportée à sept heures ; l'animal arrive au laboraoire vers neuf heures et le prélèvement est effectué vers dix heures.

PREMIERE PARTIE

PARTIE TECHNIQUE

1° — TECHNIQUES CLASSIQUES

2° — TECHNIQUES AYANT FAIT L'OBJET D'UN TRAVAIL
PERSONNEL.

TECHNIQUES CLASSIQUES

TECHNIQUES DE NUMERATIONS DIRECTES SUR LE SANG :

NUMERATION DES RETICULOCYTES

NUMERATION DES PLAQUETTES

NUMERATION DES LEUCOCYTES

HEMATOCRITE

TECHNIQUES DE NUMERATIONS INDIRECTES SUR LE SANG :

HEMATIES A GRANULATIONS BASOPHILES

RETICULOCYTES

SIDEROCYTES

FORMULE LEUCOCYTAIRE

ETUDE DES CONSTANTES ERYTHROCYTAIRES

ETUDE DE LA MOELLE OSSEUSE :

NUMERATION DES ELEMENTS NUCLEES

MYELOGRAMME

SIDEROBLASTES

DOSAGE DE L'HEMOGLOBINE

CHAPITRE I

TECHNIQUES DE NUMERATIONS DIRECTES SUR LE SANG NUMERATION DES RETICULOCYTES

(Technique M. Piette) (118)

Principe :

On admet que les réticulocytes ont une résistance à l'hypotonie supérieure à celle de l'érythrocyte mûr. Dans un premier temps les réticulocytes sont colorés par de l'azur II de méthylène, en solution isotonique et anticoagulante. Les hématies normales sont ensuite lysées par dilution secondaire avec une solution de chlorure d'ammonium. Le décompte s'opère dans une cellule spéciale de faible profondeur (20 microns).

Réactifs

Sol. I — Azur II de méthylène	0,10 g
Chlorure de sodium	0,45 g
Chlorure d'ammonium	0,20 g
Citrate trisodique crist.	1,00 g
Eau dist. q.s. p.	100 ml
Sol. II — Chlorure d'ammonium	0,20 g
Safranine	0,0025 g
Eau dist. q.s. p.	100 ml

Technique

Dans un tube à hémolyse :

Sol. I	0,08 ml
Sang	0,04 ml

Aspirer et refouler 3 à 4 fois pour obtenir un mélange homogène.
Laisser reposer 10 minutes (coloration).

Agiter en tournant doucement 1 minute.

Aspirer dans une pipette de Thoma pour leucocytes :

Mélange jusqu'au trait I

Sol. II jusqu'au trait II, soit dilution au 1/10.

Agiter en tournant doucement jusqu'à coloration dans l'ampoule.
Laisser écouler II à III gouttes. Déposer les 2 gouttes suivantes sur la surface quadrillée et une goutte sur une face de la lamelle. Assurer

un bon contact. Laisser reposer 30 minutes sous un couvercle de boîte de Pétri, à côté d'un fragment de coton hydrophile imbibé d'eau (chambre humide).

Calculs

Compter environ 200 réticulocytes.

1 bande de 50 carrés = $1/25 \text{ mm}^3$

Dilution au $1/30$.

Soit « a » éléments par bande :

$$N \text{ réticulocytes par mm}^3 = a \times 30 \times 25 = a \times 750$$

NUMERATION DES PLAQUETTES

Technique M. Piette et Mme C. Piette (119)

Principe :

Les hématies sont lysées par une solution d'alcaloïde qui n'altère et n'agglutine pas les plaquettes.

FEISSLY et LUDIN (56) préconisent l'utilisation d'une solution de chlorhydrate de cocaïne et de chlorure de sodium. La technique adoptée utilise comme liquide de dilution une solution hypotonique contenant du chlorhydrate de procaïne. La procaïne d'approvisionnement plus facile que la cocaïne montre en plus un pouvoir hémolytique supérieur.

Matériel

Cellule de Malassez.

Pipettes de Potain pour hématies.

Réactifs

Sol. I — (Chlorhydrate de procaïne 2,43 g
(Eau dist. q. s. p. 10 ml

Sol. II — (Chlorure de sodium 0,222 g
(Eau dist. q. s. p. 100 ml

Liquide de dilution à préparer extemporanément :

(Sol. I 1 ml
(Sol. II 9 ml

Centrifuger au moment du besoin.

Technique

Faire une dilution au $1/100$ avec du sang qui sourd de la piqûre.

Agiter la pipette au moins 1 minute avec précautions.

Après un repos de 30 minutes (hémolyse), agiter encore une minute avec précautions par rotation de la pipette. Faire couler 3 à 4 gouttes pour vider le tube capillaire.

Remplir la cellule de Malassez par capillarité.

Examiner après un repos minimal de 15 minutes.

Calculs

Dilution au 1/100. 1 rectangle $= 1/4 \times 1/5 \times 1/5 = 1/100 \text{ mm}^3$

Soit « a » plaquettes en moyenne par rectangle.

« A » plaquettes par $\text{mm}^3 = 10\,000 \times a$

NUMERATION DES LEUCOCYTES

Principe

Les hématies sont lysées par une dilution aqueuse d'acide acétique.

Réactifs

Liquide de Hayem :

(Acide acétique	1	ml
(Bleu de méthylène	0,05	g
(Eau dist. q. s. p.	200	ml

Centrifuger avant emploi.

Technique

Faire une dilution au 1/20. Agiter.

Remplir la cellule double de Malassez par capillarité.

Examiner après un repos minimal de 5 minutes.

Calculs

Dilution au 1/20.

Décompte de 2 cellules soit « a » éléments.

Nombre total de leucocytes par $\text{mm}^3 = a \times 10$.

HEMATOCRITE

L'hématocrite correspond au volume occupé par les hématies dans 100 ml de sang.

Bien que son principe diffère des techniques précédentes, la technique de l'hématocrite a été mise à la fin des numérations directes, pour deux raisons :

1) Parce que c'est une méthode directe qui permet l'estimation volumétrique de l'érythrocytémie.

2) Parce qu'elle est souvent rapprochée, quant à ses résultats, de l'estimation numérique des hématies, à condition qu'il n'y ait pas de variations du volume des érythrocytes. Nous calculerons d'ailleurs, à la fin de notre travail, la corrélation qui peut exister entre les deux méthodes (page 286).

Prélèvement sur héparine, dans un tube à hémolyse :

(sang	0,5	ml
(héparine sèche	0,05 à 0,1	mg.

Technique

Homogénéiser le sang par agitation. Remplir le tube à hémato-
crite, à l'aide d'une pipette Pasteur dont l'extrémité est bien
effilée, jusqu'au trait 100 (ou à peu près). Centrifuger à
6 000 t/m pendant 15 minutes. (1)

Lecture

Soit « n » divisions.

Calculs

Hématocrite brut : si remplissage à 100 = n

$$\text{si remplissage à division } N = \frac{n}{N} \times 100.$$

Hématocrite veineux : réduction de 5 p. 100 pour tenir compte
du plasma retenu dans la couche globu-
laire, soit :

$$\text{Hématocrite brut} \times 0,95.$$

Hématocrite somatique (coeff. 0,91 $\times$ Hématocrite veineux)

$$\text{soit : Hématocrite brut} \times 0,864.$$

Résultats

exprimés par l'hématocrite brut.

(1) REMARQUE

On doit avoir (151)

$$\text{r.t.m.} = \frac{1}{\sqrt{\frac{202.146.700}{r}}}$$

(rotation par minute ou vitesse en tours/minute)

avec r = distance du centre du tube au centre de rotation ;

pour r = 5 cm r.t.m. = 6 350 tours/minute

CHAPITRE II

TECHNIQUES DE NUMERATIONS INDIRECTES SUR LE SANG

Les numérations de ce genre sont faites sur des frottis de sang minces et colorés par une méthode adéquate. Après examen microscopique il est établi un pourcentage des éléments que l'on recherche, par rapport aux autres éléments de la même catégorie :

réticulocytes par rapport aux hématies
hématies à granulations basophiles par rapport aux hématies
sidérocytes par rapport aux hématies
sidéroblastes par rapport aux érythroblastes
éléments de la série blanche par rapport au total des leucocytes
(formule leucocytaire).

Matériel

On emploie un microscope dont les oculaires sont munis d'un diaphragme à évidement carré. On donne à l'évidement la surface maximale compatible avec le champ normal de l'oculaire. Cette surface est ensuite divisée en petits carrés par des cheveux maintenus en place par de la cellophane adhésive.



Pour avoir le meilleur résultat chaque évidement est divisé, par exemple, en 3 rectangles (cf fig.) ; chaque oculaire muni de son diaphragme est alors placé de façon que les lignes formant les rectangles soient à 90°. La superposition des deux images se fait instinctivement ; on a l'impression de surfaces carrées et on évite ainsi tout le travail minutieux d'une superposition parfaite qu'exigerait la fabrication de carrés absolument identiques adaptables à chaque oculaire.

Technique de décompte pour les éléments de la lignée rouge du sang

Repérer avec un grossissement moyen un endroit du frottis où les hématies sont régulièrement réparties. On passe ensuite à l'objectif à immersion et on compte hématies et éléments recherchés dans le champ. L'expérience montre que les champs situés immédiatement en haut, en bas, à gauche et à droite contiennent le même nombre d'hématies. Il suffit simplement d'y compter les éléments recherchés. Ceci fait, on revient à un grossissement moyen et on recommence la même opération autre part. On peut ainsi dénombrier assez rapidement plusieurs milliers d'hématies avec une précision identique à celle d'une numération intégrale.

HEMATIES A GRANULATIONS BASOPHILES

Principe

On emploie la technique de May-Grünwald-Giemsa décrite pour l'établissement de la formule leucocytaire mais l'eau de dilution employée doit être tamponnée à pH 7,8. La coloration doit être faite immédiatement après confection du frottis, sinon l'erreur peut atteindre 30 à 100 p. 100 selon LAVERGNE et coll. (92), qui recommandent cette méthode.

Prélèvement

Pour cet examen, il faut proscrire les anticoagulants qui peuvent occasionner une perte de 70 à 90 p. 100. On fera donc un frottis avec du sang prélevé directement à la veine.

Réactifs

Colorant de May-Grünwald.

Colorant de Giemsa.

Eau tamponnée à pH 7,8 obtenue comme suit :

Solution 1 : Sol. aq. de phosphate disodique, 2 H₂O à 11,87 g/l,
(ou 23,87 g/l de phosphate Codex 12 H₂O)

Solution 2 : Sol. aq. de phosphate monopotassique à 9,08 g/l.

Solution stock :

Sol. 1 91,5 ml

Sol. 2 8,5 ml

Solution tampon :

Sol. stock 1 ml

Eau dist. q. s. p. 50 ml

Résultats

Compter environ 3 000 hématies. Exprimer le résultat en pourcentage et en déduire le nombre d'hématies à granulations basophiles par mm³. Dans le sang veineux JOUY (86) estime qu'on trouve davantage d'hématies ponctuées que dans le sang périphérique.

RETICULOCYTES

Cette seconde technique a été employée parallèlement à la numération directe.

Réactif de coloration :

(Citrate de sodium cristallisé, 2 H₂ O 0,4 g

(Bleu de crésyl brillant 1 g

(Sol. aq. de chlorure de sodium à 8,5 g/l 100 g

Technique

Dans un tube à hémolyse :

(Colorant X gouttes
(Sang I goutte

Mélanger par retournement. Repos 10 minutes à température ordinaire.

Centrifuger 5 minutes à 4 000 t/m. Rejeter le colorant surnageant par retournement.

Emulsionner le culot d'hématies avec la petite goutte de colorant restant, au moyen de l'extrémité d'une pipette Pasteur. Faire 4 à 5 frottis.

Calculs

Compter 3 000 hématies environ.

Exprimer le résultat en pourcentage. Connaissant le nombre de globules rouges par mm^3 , on déduit le nombre de réticulocytes par mm^3 .

Remarque

Nous avons opéré sur du sang frais non hépariné ; dans une étude critique des techniques de numération des réticulocytes, NIZET et GOVAERTS (113) ont observé que les techniques utilisées sont d'une sensibilité très variable suivant l'anticoagulant choisi.

SIDEROCYTES

(Hématies à granulations de fer) (109)

Réactifs

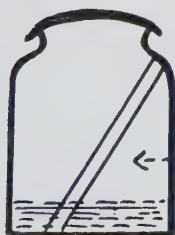
Soluté officinal de formaldéhyde.

Solution aqueuse de ClH à 2 ml pour 100 ml.

Solution aqueuse de ferrocyanure à 2 g pour 100 ml préparée au moment du besoin.

Solution aqueuse de safranine à 0,5 g pour 100 ml.

Technique



Faire un frottis mince de sang.

Fixer aux vapeurs de formol : 10 minutes minimum à 24 h.

10 ml de formol sont versés dans un récipient de 5,5 cm de haut et 5,0 cm de large : le frottis est tourné vers le formol et le récipient est recouvert d'un verre de montre.

Colorer dans une boîte de Laveran :

— la lame est posée sur 2 supports, frottis en bas.

Ajouter :

(Sol. aq. ferrocyanure de potassium à 2 g pour 100 ml)	) aa 20 ml
(Sol. aq. ClH à 2 ml pour 100 ml	

Le mélange est préparé extemporanément.

Laisser agir à température ordinaire	1 heure
Laver à l'eau courante	15 minutes
Colorer le fond avec sol. aq. safranine à 0,5 g pour 100 ml	10 minutes
Laver et sécher.	

Résultats

La technique de décompte est la même que celle des hématies à granulations basophiles. Compter les hématies à granulations nettes qui sont facilement repérées en faisant varier imperceptiblement la mise au point.

Exprimer le résultat en pourcentage par rapport aux hématies et en déduire le nombre de sidérocytes par mm^3 de sang.

FORMULE LEUCOCYTAIRE

L'étalement du sang est effectué lentement, sur une lame bien propre qui a subi un lavage à l'eau savonneuse, un rinçage à l'eau ordinaire et une immersion de quelques heures dans l'alcool. Sécher très rapidement par agitation de la lame.

Réactifs

Colorant de May-Grünwald.

Colorant de Giemsa.

Eau neutre préparée à partir de solutions tampons :

(Solution aqueuse à 33,5 g/l de phosphate mono-	
(potassique ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$)	10 ml
(Sol. aq. à 75 g/l de phosphate disodique	
(($\text{PO}_4\text{Na}_2\text{H}$, $12\text{H}_2\text{O}$)	20 ml
(Eau dist. q. s.	1000 ml

Technique

- 1) Fixation au May-Grünwald employé pur :
XXX gouttes 3 minutes
- 2) Coloration par addition d'eau neutre :
XXX gouttes mélanger 1 1/2 à 2 minutes
Rejeter le colorant dilué par un jet d'eau ordinaire.
Egoutter la lame.
- 3) Diluer extemporanément du Giemsa (XV gouttes
pour 10 ml d'eau neutre), verser sur le frottis
et laisser agir 20 minutes

- 4) Laver quelques secondes avec de l'eau du robinet pour faire partir le Giemsa dilué en faisant tomber l'eau à côté du frottis.

Egoutter et sécher entre 2 feuilles de papier filtre de texture fine.

Examen

6

On procède à un premier examen avec un système optique donnant un grossissement faible pour juger de la densité et de la répartition des éléments nucléés. Le décompte s'effectue avec un objectif à immersion. Le parcours de la lame se fait en suivant plusieurs lignes parallèles, allant d'une extrémité à l'autre du frottis, ceci afin de tenir compte de l'inégalité de répartition des leucocytes sur le frottis ; en effet les granulocytes peuplent les bords et l'extrémité. Les irrégularités de répartition des leucocytes des divers types sont subordonnées à la technique de l'étalement, et sont fonction de la vitesse de confection du frottis et de la pression de la lamelle sur la lame (PINEL et BOCAGE, 120).

En définitive, on dénombre 100 éléments au milieu du frottis et 100 éléments sur les bords.

Calcul

Après un décompte habituel de 200 leucocytes, on établit le pourcentage de chaque variété. On détermine ensuite le taux absolu par mm^3).

CHAPITRE III

ETUDE DES CONSTANTES ERYTHROCYTAIRES

Plusieurs constantes seront maintenant définies. Les trois premiers rapports demandent la connaissance de la numération des globules rouges en millions par mm³, la connaissance de l'hématocrite et du taux d'hémoglobine. Ces notions sont à la base d'une classification morphologique des anémies. (WINTROBE, 151).

Les dernières constantes sont établies d'après les données que nous déduisons de la courbe de Price-Jones et de la courbe de résistance globulaire à l'hypotonie.

1) VALEUR GLOBULAIRE (Vg)

$$\text{Valeur globulaire absolue} = \frac{\text{Hb g/l}}{\text{Ht en millions par mm}^3}$$

(C'est le poids moyen d'hémoglobine contenu dans un érythrocyte exprimé en micromicrogrammes).

$$\text{Normalement chez le lapin, Vg absolue} = \frac{130}{5,1} = 25,5$$

$$\text{Valeur globulaire relative} = \frac{\text{Hb p. 100}}{\text{Ht p. 100}}$$

$$\text{Soit : } \frac{\text{Hb g/l}}{130} \times \frac{5,1}{\text{Ht millions/mm}^3}$$

Ce qui fait que :

$$\text{Vg absolue} = 25,5 \times \text{Vg relative}$$

2) VOLUME GLOBULAIRE MOYEN

$$v \text{ micron-cubes} = \frac{\text{Hématocrite}}{\text{Ht millions/mm}^3} \times 10$$

$$\text{Normalement chez le lapin, } v \text{ micron-cubes} = 77$$

3) CONCENTRATION GLOBULAIRE MOYENNE

$$C \text{ p. 100} = \frac{\text{Hbg p. 100}}{\text{Hématocrite}} \times 100$$

(C'est le poids d'hémoglobine contenu dans 100 ml de globules)
Normalement chez le lapin, C p. 100 = 33 g pour 100 ml de globules.

4) INDICE DE SPHERICITE (I S)

Dans un article général, KURODA et KOMATSU (89) ont décrit les principales techniques utilisées.

Pour évaluer les modifications de forme, on se contente parfois de mesurer l'épaisseur des globules rouges. FMMONS (*) mesure la longueur de la colonne de rouleaux d'hématies, puis il divise le chiffre obtenu par le nombre des globules accolés, obtenant ainsi leur épaisseur. PONDER (*) photographie au microscope les hématies de profil, puis il en mesure l'épaisseur sur les microphotographies. VAN BOROS (*) calcule leur épaisseur à partir du volume et du diamètre moyen des corpuscules. VERVEEN (**) mesure à la fois l'épaisseur, le volume et la surface globulaire à l'état sec en faisant tourner le frottis qui diffracte la lumière et il observe les anneaux interférentiels ainsi produits. LARSEN (**) propose de mesurer directement l'épaisseur des hématies par la méthode d'ombrage à l'or des frottis, sous un angle connu. KURODA et KOMATSU (89) déterminent directement la sphéricité des globules rouges par deux mesures de transmission lumineuse : en suspension, les érythrocytes biconcaves prennent une direction au hasard, mais lorsqu'une telle suspension est mise en mouvement par rotation, les globules sont orientés par le mouvement produit et la lumière qui pénètre dans la suspension érythrocytaire est bien mieux transmise qu'à l'état de repos. Par contre, les érythrocytes sphériques ne peuvent pas être orientés par le mouvement de la suspension et le facteur de transmission de la lumière à travers une telle suspension globulaire est le même en mouvement qu'au repos. La différence entre l'extinction d'une suspension érythrocytaire en mouvement et l'extinction de la même suspension au repos permet à ces auteurs de calculer un indice de sphéricité.

Comme la plupart de ces méthodes exige un matériel approprié, nous avons choisi l'indice de sphéricité proposé par CAZAL (36), rapport entre le volume du globule et le volume d'une sphère de même diamètre que le globule :

$$\frac{6 \text{ v}}{3,14 \text{ d}^3} \quad \text{si} \quad \begin{cases} \text{v} = \text{volume moyen érythrocytaire} \\ \text{d} = \text{diamètre moyen érythrocytaire} \end{cases}$$

Ce rapport augmente si la sphérocytose augmente (p. 177).

Normalement chez le lapin, I S = 0,54.

5) COEFFICIENT D'ANISOCYTOSE « A » (p.177)

Il se déduit des caractéristiques de la courbe de Price-Jones :

$$A = \frac{100 \times s}{m} \quad \text{si} \quad \begin{cases} s = \text{écart type} \\ m = \text{moyenne} \end{cases}$$

Normalement chez le lapin, A = 7,10 à 7,80 p. 100

(*) Cité par KURODA et KOMATSU.

(**) Cité par CAZAL (36) p. 43.

6) COEFFICIENT DE VARIATION « B » (p. 146)

Ce coefficient s'applique aux courbes de résistance globulaire à l'hypotonie. Nous savons que le coefficient d'anisocytose n'est autre que le coefficient de variation relative, que l'on détermine dans le calcul statistique pour permettre des études comparatives. Nous avons déterminé le même coefficient pour l'étude des données du test de fragilité osmotique.

$$B = \frac{100 \times s}{m} \quad \left\{ \begin{array}{l} s = \text{écart type de la courbe de} \\ \text{fragilité osmotique} \\ m = \text{résistance globulaire moyenne} \\ \text{à l'hypotonie} \end{array} \right.$$

Normalement chez le lapin, $B = 10,25$ p. 100.

CHAPITRE IV

ETUDE DE LA MOELLE OSSEUSE

NUMERATION DES ELEMENTS NUCLEES DE LA MOELLE

Il faut distinguer deux types de moelle osseuse, dont la proportion respective varie au cours de la vie :

- 1) La moelle jaune constituée par de la graisse
- 2) La moelle rouge formée de ($\frac{2}{5}$ cellules hématopoïétiques
($\frac{2}{5}$ graisse
($\frac{1}{5}$ sang

L'appréciation directe du nombre de cellules nucléées de la moelle osseuse a fait l'objet de nombreux travaux (36) ; pour que les résultats soient comparables, il faut prélever sensiblement au même endroit du fémur. L'animal est saigné à fond avant le prélèvement de l'os ; en effet les proportions variables de la moelle rouge et de sang rendraient impossible toute détermination en valeur absolue, de la richesse cellulaire (61). Nous avons utilisé la technique de HARRIS et coll. (75 bis).

Matériel :

2 tubes à hémolyse.
Agitateur de Kahn.
Cellule de Neubauer.
Pipette de 1 ml au 1/20.
Pipette de Kahn de 0,2 ml.

Réactifs

Sérum : on anesthésie l'animal à l'éther. On coupe les poils du thorax et on désinfecte la peau ; on fait ensuite, suivant la ligne médiane, une incision cutanée de 5 à 7 cm à partir du cartilage thyroïde ; on incise ensuite l'aponévrose cervicale superficielle. On dégage l'artère carotide avec une sonde canelée. On ponctionne cette artère avec une seringue de vingt millilitres munie d'une aiguille 40 — 10/10.

Acide acétique au 1/200 (liquide de HAYEM).

Principe

De la moelle en suspension dans un peu de sérum est diluée au 1/100 avec de l'acide acétique dilué. On procède ensuite à la numération dans une cellule de Neubauer.

Technique

Dans un tube à hémolyse, mesurer 0,25 ml de sérum. Peser. Retirer le fémur de la patte du lapin mort, le nettoyer et sectionner les épiphyses. Prélever un petit fragment de moelle (maximum 0,10) que l'on introduit dans le sérum. Peser. Ajouter du sérum pour avoir une dilution au 1/10. Pour faire une suspension homogène, ajouter trois billes de verre. Agiter environ une demi-heure dans l'agitateur de Kahn.

Il ne semble pas que l'agitation mécanique de la moelle produise une destruction des éléments nucléés se traduisant par une erreur de numération par défaut. La défibrination du sang par battage ou agitation avec des billes de verre est utilisée par les immunologistes (46), pour éviter l'agglutination non spécifique des globules blancs mis au contact d'un sérum quelconque. MAUPIN (107) lui reproche d'altérer sensiblement les leucocytes par action mécanique, ce qui ne peut nous gêner pour un simple décompte.

Dans le deuxième tube à hémolyse, faire une dilution au 1/100 :

(Dilution moelle dans sérum 0,1 ml

(Liquide de Hayem 0,9 ml

Agiter dans l'agitateur de Kahn jusqu'à homogénéité. Remplir par capillarité la cellule de Neubauer.

Calculs

Pour connaître le poids de moelle ajouté au sérum, opérer comme dans l'exemple suivant, par double pesée :

Tare = tube et support + 0,25 ml sérum + 2,9385 g

Tare = tube et support + 0,25 ml sérum + moelle + 2,8990 g

Poids de moelle 0,0395 g

Pour avoir une dilution au 1/10 ajouter :

sérum = 0,395 — 0,25 = 0,145 ml (pipette de Kahn) — voir remarques.

Résultats

Compter environ 1 000 éléments, soit deux cellules (quadrillage Thoma).

Soit « a » éléments, en moyenne, dans 80 carrés :

$N/mm^3 = a \times 5\,000$

Remarques

La densité de la moelle est sensiblement égale à l'unité (75 bis) ; la densité de la moelle jaune est légèrement inférieure à l'unité, celle de la moelle rouge légèrement supérieure (36).

Densité du sérum = 1,025 (1,018 à 1,031) par la méthode gravimétrique (3) et après intoxication au digitonoside, nous trouvons $d = 1,01$.

Comme les densités de la moelle et du sérum sont voisines de l'unité, on peut confondre poids et volume.

MYELOGRAMME

Frottis

Sur le bord d'une lame, homogénéiser un peu de moelle avec un peu de sérum.

Faire plusieurs étalements. Sécher très rapidement.

Coloration

On emploie la coloration May - Grünwald - Giemsa.

Myélogramme du fémur de lapin (53)

Myéloblastes	6
Promyélocytes	10
Myélocytes amphophiles	9
Myélocytes basophiles	1,5
Myélocytes éosinophiles	0,5
Métamyélocytes	10
Polynucléaires amphophiles	47
Polynucléaires basophiles	2
Polynucléaires éosinophiles	3
Monocytes	1
Lymphocytes	2
Erythroblastes	8

D'après les travaux de MALASSIS et coll. (103), le pourcentage des normoblastes dans la moelle est de : $28,8 \pm 1,4$ p. 100. Les valeurs extrêmes que nous avons trouvées, pour onze lapins adultes, sont 17,5 et 35,2 p. 100.

SIDEROBLASTES

Le frottis est établi comme pour le myélogramme.

Fixation

La préparation est mise au contact des vapeurs de formol le plus rapidement possible. MOURIQUAND (109) estime cependant qu'une fixation tardive, même de plusieurs mois, ne compromet pas en général le résultat de la coloration.

La durée de fixation varie de dix minutes à plusieurs jours, de préférence vingt-quatre heures dans une atmosphère peu chargée de vapeurs.

Coloration

Méthode de PERLS au bleu de Prusse, comme pour les sidérocytes (page 33). On peut au préalable colorer l'étalement au Giemsa mais MOURIQUAND ne recommande pas ce mode opératoire, la lecture étant plus difficile.

Résultat

La chromatine du noyau de l'érythroblaste se colore en rose foncé et le cytoplasme en rose clair.

La cellule érythroblastique reconnue, son cytoplasme est exploré minutieusement afin d'y découvrir d'éventuels grains d'une teinte bleue plus ou moins foncée, tirant éventuellement sur le vert. Les variations d'intensité de la coloration sont en rapport direct avec la taille des grains, les plus gros étant les plus sombres.

L'étude du fer médullaire extraérythroblastique est le complément nécessaire du dénombrement des sidéroblastes. Par suite de l'irrégularité de répartition des granulations ferriques, il est indispensable de parcourir tout l'étalement et même plusieurs étalements. L'expression quantitative de ce fer extraérythroblastique est difficile à formuler. La notation de MOURIQUAND va de 0 à cinq.

CHAPITRE V

DOSAGE DE L'HEMOGLOBINE

Méthode de LAVERGNE (91) adaptée à l'électrocolorimètre de Jobin et Yvon par M. WEBER (81).

Principe

Le sang est dilué dans de l'eau distillée ammoniacale ; il se produit une lyse des globules avec mise en solution de l'oxy-hémoglobine. On utilise une solution alcaline pour s'opposer à la précipitation des albumines et au trouble qu'elles peuvent ainsi entraîner. L'oxyhémoglobine est très stable dans l'eau ammoniacale.

Réactif

Solution d'ammoniaque officinale	2,4 ml
Eau distillée q. s. p.	100 ml

Technique

Prélèvement : Prélever 20 mm³ de sang à la pipette de Sahli dont on a dûment contrôlé, une fois pour toutes, la graduation. Verser le sang dans 4 ml d'eau ammoniacale.

Dosage : Filtrer la solution ou centrifuger pendant quinze minutes à 5 000 tours/minute. Faire la lecture à l'électrocolorimètre, écran 55, cuve Cora, division origine 200. Déterminer en même temps l'absorption de base avec la solution ammoniacale.

Calcul : On soustrait l'absorption de base du chiffre donné par la solution d'hémoglobine.

$$\text{Hémoglobine g/l} = (\text{Chiffre trouvé}) \times 3,75$$

$$\text{Chez le lapin, hémoglobine p. 100} = \frac{\text{chiffre trouvé} \times 3,75}{130}$$

N.B. Nous avons étalonné l'électrocolorimètre par un dosage ferrocolorimétrique suivant la méthode de WONG technique de P. BALATRE (58) ; le fer est libéré par action combinée de l'acide sulfurique et du persulfate d'ammonium, sans destruction complète de la matière organique. Après défécation trichloracétique, le dosage est réalisé colorimétriquement, à l'état de sulfocyanate ferrique, en milieu alcool-acétonique qui renforce et stabilise la coloration.

*TECHNIQUES AYANT FAIT L'OBJET
D'UN TRAVAIL PERSONNEL*

TECHNIQUES DE CLASSIFICATION DES HEMATIES SUIVANT
LEUR RESISTANCE :

- RESISTANCE MECANIQUE
- RESISTANCE THERMIQUE
- RESISTANCE A L'HEMOLYSE PAR DES SUBSTANCES
HEMOLYTIQUES OU PAR ABAISSEMENT DE LA TEN-
SION OSMOTIQUE.
 - Etude de la première méthode :
avec une dilution donnée, faire varier le temps de la
réaction.
 - Etude de la seconde méthode :
dans un temps donné, opérer avec des solutions de plus
en plus diluées.

INFLUENCE DES DIFFERENTS FACTEURS DE LA REACTION
D'HEMOLYSE A L'HYPOTONIE

NUMERATION GLOBULAIRE

DETERMINATION DU DIAMETRE ERYTHROCYTAIRE.

TECHNIQUES DE CLASSIFICATION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESISTANCE

INTRODUCTION

En dehors de la numération proprement dite, les techniques concernant les hématies que nous avons décrites jusqu'alors permettent de diviser les érythrocytes en deux catégories : il est ainsi possible de distinguer les hématies renfermant des granulations de fer (ou sidérocytes) et les hématies qui n'en renferment pas. De même la coloration de MAY-GRUNWALD avec de l'eau tamponnée à pH 7,8 permet de séparer les hématies à granulations basophiles des autres. Il n'est pas possible actuellement de faire d'autres nuances. Il est certain pourtant qu'on s'y est essayé par exemple dans l'étude des réticulocytes ; c'est ainsi qu'HEILMEYER et NIZET en distinguent habituellement quatre groupes : ceux qui sont bourrés de granulations, ceux qui n'en sont que partiellement remplis, ceux qui contiennent des amas séparés de granules et ceux qui ne possèdent que des granulations isolées.

Il existe cependant d'autres techniques qui permettent d'établir plusieurs classes parmi les hématies étudiées ; ce sont celles qui groupent, par exemple, les hématies suivant la mesure de leur diamètre ou de leur résistance ; ces techniques permettent d'établir des courbes expérimentales qui rappellent les courbes de LAPLACE-GAUSS, pouvant même s'identifier à ces dernières, ce qui fait qu'à leur propos sont développées différentes techniques du calcul statistique.

Nous étudierons successivement :

La résistance mécanique des hématies

La résistance thermique

et la résistance globulaire à l'hémolyse.

CHAPITRE VI

RESISTANCE MECANIQUE

L'examen de la résistance mécanique a été introduit pour la première fois en clinique par DAMESHEK et MILLER. HEILMEYER (77) qui cite ces derniers auteurs, pense que c'est un test plus physiologique que l'examen de la résistance osmotique, qui ne joue aucun rôle dans l'organisme.

Généralités

Plusieurs méthodes ont été proposées. En 1913, KAGAN (87) étudiait la résistance mécanique des érythrocytes de différentes espèces d'animaux en agitant du sang avec du mercure ou des billes de verre.

DREYFUS, DAUSSET et VIDAL (51), reprenant le même principe, mesurent la résistance mécanique des érythrocytes humains en agitant avec des billes de verre trois millilitres d'une suspension globulaire à 5 p. 100. Avec du sang frais et dans ces conditions standard l'hémolyse normale s'échelonne entre 37 et 147 milligrammes d'hémoglobine libérée pour 100 ml de sang, avec une moyenne de 77,7 milligrammes ; dans certains cas ils emploient du sang qui a séjourné dix-huit heures à l'étuve à 37° : l'hémolyse s'échelonne alors entre 204 et 298 milligrammes d'hémoglobine libérée pour 100 ml de sang, avec une moyenne de 249 milligrammes. Dans tous les cas ils utilisent un agitateur de KAHN.

HEILMEYER (77) se sert d'un appareil rotatif comportant quatre erlenmeyers sur un plateau vertical, suivant le principe adopté par DAMESHEK. Les globules sont détruits par agitation avec des billes de verre et le résultat est exprimé en pourcentage d'hémoglobine libérée. 25 à 30 p. 100 des globules d'un homme normal sont ainsi lysés après vingt-quatre heures ; environ 35 p. 100 d'hémoglobine est libérée après six heures dans l'ictère hémolytique latent et 90 p. 100 dans l'ictère hémolytique en phase aiguë.

STAUFFER (140) utilise l'hémorésistomètre de H. et A. FLEISCH à la température du laboratoire. Le principe de cet appareil consiste à traumatiser 10 ml de sang dans un récipient cylindrique dans lequel tourne un cube de plexiglass à la vitesse de 3 000 tours/minute. L'auteur travaille, d'une part, avec le temps d'épreuve standard de quinze minutes ou d'autre part, chaque fois que cela est possible, avec un temps d'épreuves de trente minutes en exprimant la « fragilité mécanique » par le nombre de milligrammes d'hémoglobine libérée au cours du traumatisme.

Résultats

Chez l'homme, HEILMEYER trouve une diminution de la résistance mécanique dans de nombreuses érythropathies naissantes, là où existe un début d'altération structurale des érythrocytes, comme dans l'anémie falciforme et dans l'anémie de Cooley. Il obtient le même résultat dans de nombreuses anémies hémolytiques acquises.

Chez l'animal, STAUFFER a calculé un certain nombre d'indices de corrélation entre la fragilité mécanique et diverses données hématologiques. Chez les animaux de petite taille, la fragilité est d'autant plus grande que le métabolisme basal est plus élevé. Cette corrélation s'étend à tous les paramètres en rapport avec le métabolisme, notamment la durée de vie des érythrocytes. Chez les grands animaux, il constate que la diminution de la fragilité est en rapport avec la vitesse du torrent circulatoire dans l'aorte.

La fragilité mécanique augmente avec le volume globulaire et la valeur globulaire. Elle diminue avec le nombre des hématies. STAUFFER termine en signalant un fait important : les fragilités osmotique et mécanique varient en sens inverse chez les espèces examinées.

TECHNIQUE UTILISEE POUR LA MESURE DE LA RESISTANCE GLOBULAIRE A L'AGITATION MECANIQUE.

Nous avons tenté un certain nombre d'essais pour obtenir une destruction des hématies allant progressivement de 0 p. 100 à 100 p. 100 en fonction du temps. Si les moyens mis en œuvre permettent une destruction de 50 p. 100 assez rapidement, par contre la destruction totale est difficile à obtenir. Citons, pour mémoire, la technique employée ainsi qu'un résultat type, pour montrer l'allure de la courbe obtenue.

Matériel

Tubes à hémolyse.

1 pipette de 0,10 ml (ou de 0,20 ml) au 1/100 de ml.

1 burette de Mohr pour la distribution du réactif tamponné.

1 agitateur de Kahn à arrêt automatique (après 3 minutes d'agitation).

1 photomètre.

Réactifs

Solution A — Solution mère tamponnée à pH 7,4 :

(Phosphate monosodique 2 H ₂ O	2,43 g
(Phosphate disodique (PO ₄ HNA ₂)	13,655 g
(Chlorure de sodium	90 g
(Eau distillée q. s. p.	1 000 ml

Conserver cette solution au réfrigérateur.

Solution B — Au moment de l'emploi, diluer la solution mère au 1/10.

On obtient une solution osmotiquement équivalente à une solution de chlorure de sodium à 10 g par litre.

Technique

Distribuer dans 6 tubes à hémolyse :

(Sang total 0,02 ml
(Billes d'acier (diamètre 3,5 mm) N° 2

Le premier tube sert de tube témoin, correspondant à 0 p. 100 d'hémolyse. Les autres tubes sont mis dans le portoir de l'agitateur. Ce dernier est surchargé au minimum : il n'y a que les tubes et leur support. A chaque arrêt automatique un tube est enlevé, ce qui correspond chaque fois à trois minutes d'agitation. A la fin de l'expérience, on introduit dans tous les tubes :

Réactif tamponné à pH 7,4 4 ml

On mélange par retournements. On attend environ 30 minutes. On centrifuge à 4 000 tours/minute pendant 5 minutes et on lit à l'électrocolorimètre.

Résultats

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'hémoglobine libérée. Le taux de 100 p. 100 correspond à la lyse de 0,02 ml de sang total dans 4 ml d'eau distillée.

Exemple

TABLEAU 1

Temps t en minutes	D. O. Observée	P. % Hb libérée
0	0	0
3	9	28
6	13	40,5
9	16	50
12	19	59,5
15	22	69
Tubes		
0 p. 100	0	
100 p. 100	32	

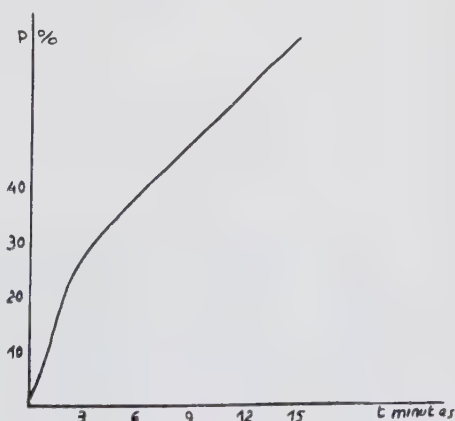


FIG. 1

(Lapin J avant injections)

Courbe correspondant au tableau

Conclusion

Si l'on appelle T_{50} le temps nécessaire pour la destruction de 50 p. 100 des hématies, les résultats obtenus chez plusieurs lapins sont de l'ordre de 9 à 11 minutes, de même que pour l'homme. Ce temps peut doubler dans certains cas. Le facteur viscosité semble avoir une certaine importance : par exemple, si le sang est étendu le long des parois du tube à hémolyse sur 1 cm de hauteur avant le départ de l'expérience, les T_{50} peuvent être diminués de moitié.

Ces expériences ont été interrompues, les différents résultats ne paraissant pas probants et susceptibles d'établir un classement des hématies suivant leur résistance mécanique. Dans nos conditions d'expériences, la destruction d'une hématie semble davantage le fait du hasard, rencontre de la bille qui provoque son écrasement, que de la résistance effective de sa partie limitante externe.

CHAPITRE VII

TEST DE RESISTANCE GLOBULAIRE A LA CHALEUR

Généralités

La destruction rapide des hématies conservées à 37° constitue une des épreuves les plus simples et les plus sensibles. Ce sont HAM et DACIE (*) qui l'ont décrite indépendamment l'un de l'autre. Elle a été étudiée par HEGGLIN et MAIER (*) sous le nom de « test de résistance à la chaleur ». Pour ce test, il suffit de mettre à l'étuve à 37° un tube de sang du malade.

Les deux seules précautions à prendre consistent d'une part à recueillir le sang aseptiquement pour éviter toute souillure microbienne et d'autre part à fermer hermétiquement le tube par un lutage à la paraffine pour éviter toute déperdition en gaz carbonique.

L'hémolyse est appréciée d'heure en heure. Selon CAROLI, ETEVE, PARAF et ROBINEAU (33) tous les sangs normaux humains hémolysent à l'étuve en 4 ou 5 jours. D'autre part, on n'observe jamais normalement d'hémolyse avant 3 jours.

BOUSSER (25) estime également que l'hémolyse des sangs normaux ne débute pas avant la 72^{me} heure à 37°. Dans certains cas de maladies de Marchiafava-Micheli il l'obtient selon les périodes, en six heures, quatre heures et même une heure à la température du laboratoire. D'autres auteurs ont expérimenté la température de 58° : c'est cette température que nous avons choisie pour nos expériences.

Principe

On recherche dans cette réaction un moyen de classer les hématies en plusieurs catégories suivant leur résistance à la température de 58°.

Une même quantité de sang, (soit 50 à 100 millions d'érythrocytes suivant les individus) est soumise à l'action de la chaleur pendant des temps variables, dans le but de rechercher le temps nécessaire à la destruction de la totalité des globules rouges. On construit ensuite une courbe qui représente le pourcentage d'hématies détruites en fonction du temps en minutes. La réaction se fait dans un bain-marie dont la température de 58° est stabilisée par l'emploi d'un thermostat.

(*) cité par BOUSSER (25).

Matériel

8 tubes à hémolyse.

1 pipette de 0,10 ml au 1/100.

1 burette de Mohr pour la distribution facile du réactif tamponné.

Electrophotomètre.

Réactifs

Les mêmes que ceux qui sont employés dans le test de résistance mécanique (p. 52) soit :

Solution A — solution mère tamponnée à pH 7,4

Solution B — solution mère diluée au 1/10.

Technique

Distribuer dans les 8 tubes à hémolyse :

Solution B 4 ml

Sang 0,02 ml

Le 1^{er} tube reste dans le portoir et sert de tube témoin, correspondant à 0 p. 100 d'hémolyse.

Tous les autres tubes sont portés successivement au bain-marie après avoir été agités plusieurs fois par retournements ; on les introduit à une minute d'intervalle pour éviter une baisse brutale de la température de l'eau du bain-marie.

N° des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
Temps de chauffage en minutes	0	5	10	20	30	40	50	60

Refroidir dans de l'eau glacée au sortir du bain-marie pour arrêter la réaction.

Après refroidissement, mélanger par plusieurs retournements pour détacher le culot d'hématies.

Centrifuger à 4 000 tours/minute pendant 5 minutes.

Lire à l'électrocolorimètre.

Résultat

Construire le polygone des fréquences.

Exemples

Nous donnons, comme exemple, les courbes traduisant l'augmentation d'hémolyse obtenue d'un tube au suivant qui sont déduites de l'étude des lapins dénommés « F » et « H ». Nous traçons en trait plein les courbes de l'animal normal et en pointillé celles qui sont obtenues après vingt-huit injections de solution concentrée de digitonide.

Nous constatons que la résistance globulaire à la chaleur est assez peu modifiée dans l'intoxication au digitonoside ce qui nous a conduit à abandonner cette étude.

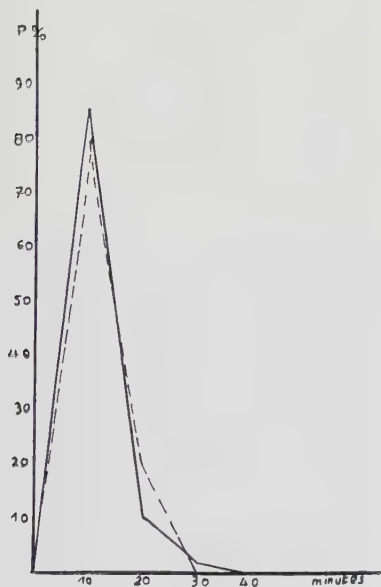


FIG. 2 — *lapin F*

En trait plein :
courbe avant injections

En pointillé :
courbe après injections

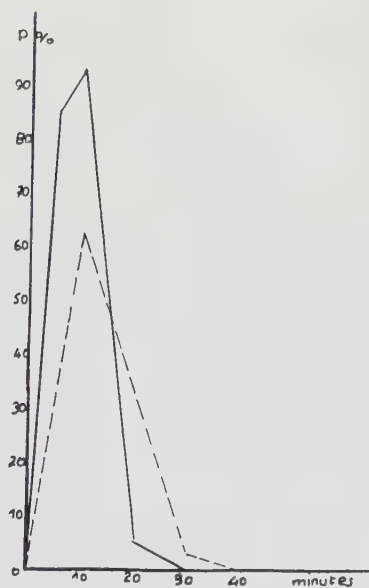


FIG. 3 — *lapin H*

En trait plein :
courbe avant injections

En pointillé :
courbe après injections

CHAPITRE VIII

RESISTANCE GLOBULAIRE A L'HEMOLYSE PAR DES SUBSTANCES HEMOLYTIQUES OU PAR ABAISSEMENT DE LA TENSION OSMOTIQUE

Dans une telle étude, le but considéré le meilleur par beaucoup d'auteurs est la recherche des conditions qui permettent d'obtenir 100 p. 100 d'hémolyse à partir de sang dilué ou d'une suspension globulaire ; ceci peut être atteint schématiquement de deux manières :

- 1/ Avec une dilution donnée en faisant varier le temps de la réaction.
- 2/ Dans un temps donné en opérant avec des solutions de plus en plus diluées.

ETUDE DE LA PREMIERE METHODE (124)

Avec une dilution donnée, faire varier le temps de la réaction pour obtenir une hémolyse de 100 p. 100.

Généralités

Primitivement la théorie traitait les globules rouges comme de simples molécules et la vitesse de réaction s'écrivait :

$$dN / dt = k (N_0 - N), \text{ } N_0 \text{ étant le nombre initial de globules dans le système.}$$

On remplaçait de préférence N par P (pourcentage de globules rouges hémolysés) et on traçait une courbe en fonction de P et de t (temps en minutes). Cette courbe s'appelait courbe de pourcentage d'hémolyse.

Par suite du manque de précision des appareils de l'époque (1898) on obtenait des courbes expérimentales correspondant à la théorie : la courbe d'hémolyse décrite alors n'était pas une sigmoïde mais une courbe uniformément concave par rapport à l'axe des X .

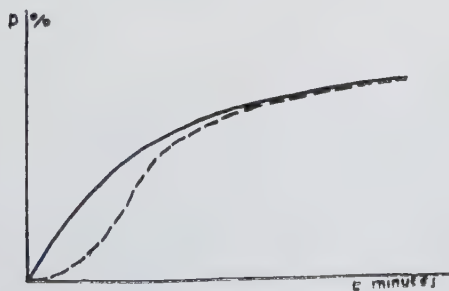


FIG. 4 — PONDER (124), p. 170

En trait plein : courbe de pourcentage d'hémolyse obtenue si l'expression $dN / dt = k (N_0 - N)$ était correcte.

En pointillé : courbe expérimentale.

L'utilisation des cellules photoélectriques des appareils électrocolorimétriques a permis ensuite des mesures plus précises et démontré que les courbes de pourcentage d'hémolyse avaient en réalité une forme sigmoïde.

Pour concilier ces faits, BROOKS en 1919 distingue la « réaction fondamentale », combinaison chimique entre l'hémolysant et les composants globulaires et la « lyse » des globules du système, qui en est le résultat visible.

La vitesse de la réaction fondamentale devient :

$$dx / dt = k (c-x) (S-x)$$

Dans cette expression :

k est une constante

x la quantité d'hémolysant utilisé

c la quantité initiale d'hémolysant

S le total initial du composant cellulaire.

Cette vitesse est proportionnelle à la quantité d'hémolysant et de composant cellulaire non utilisés : elle est évidemment très rapide au début pour les fortes concentrations d'hémolysant.

L'équation $dx / dt = k (c-x) (S-x)$ donne par intégration :

$$t = \frac{1}{k (S-x)} \log \frac{c (S-x)}{S (c-x)}$$

Si la quantité de composant cellulaire qui entre dans la réaction est grande par comparaison avec c, on peut écrire :

$$dx / dt = kS (c-x)$$

$$\text{soit } t = \frac{1}{kS} \log \frac{c}{c-x} \text{ après transformation (47)}$$

BROOKS tient compte du fait que les différents globules ont des résistances différentes et il donne comme définition de la résistance la quantité d'hémolysant x qui se combine avec le composant cellulaire avant que le globule hémolyse. Ainsi, des globules hémolysent quand la quantité x_1 s'est combinée dans le temps t_1 , d'autres quand la quantité x_2 s'est combinée dans le temps t_2 . On suppose que ces résistances mesurées en valeur de x sont distribuées selon une certaine forme de distribution de fréquence.

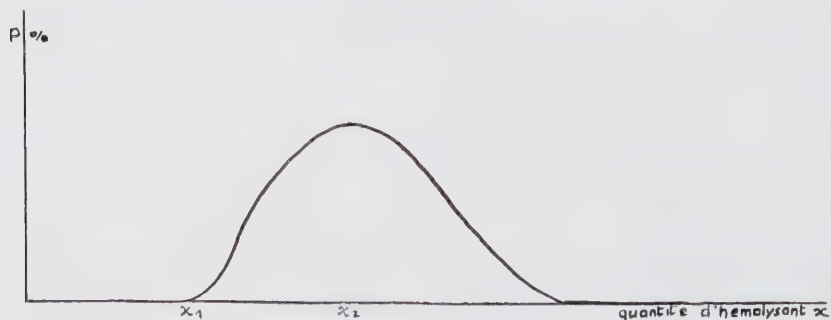


FIG. 5

Distribution de fréquence de N globules de résistances différentes.

Les expressions proposées par BROOKS décrivent les courbes obtenues lorsque les temps d'observation sont limités à 20 minutes. Pour des observations de plus longue durée, d'autres expressions ont été proposées par PONDER et YEAGER : (*)

$$dx/dt = KS (c - x)^n$$

$$kt = \frac{p}{p-1} \left(c^{\frac{p-1}{p}} - (c-x)^{\frac{p-1}{p}} \right)$$

avec $k = KS$

$$p = \frac{1}{n}$$

« n » est une nouvelle constante dont les valeurs successives ont été calculées par les auteurs et varient suivant les conditions opératoires.

Cette expression est capable de décrire convenablement la plupart des courbes temps-dilutions.

Technique..

Pour étudier la distribution des résistances globulaires suivant la théorie de BROOKS, on détermine expérimentalement :

1/ La courbe temps-dilution

2/ La courbe de pourcentage d'hémolyse pour une concentration déterminée.

On calcule mathématiquement, d'après l'expression de PONDER et YEAGER :

— la courbe temps — quantité d'hémolysant utilisé.

On déduit finalement :

— la courbe pourcentage d'hémolyse — quantité d'hémolysant utilisé.

I/ COURBES TEMPS - DILUTIONS

Principe

Avec un sang déterminé, homme ou animal d'expérience, et à une température déterminée de 25° par exemple, on recherche la relation entre le temps en minutes et les dilutions d'hémolysant qui produisent 100 p. 100 d'hémolyse.

Réactifs

Sang hépariné.

Solution de chlorure de sodium à 10 g/l.

Suspension globulaire au 1/20 dans la solution de chlorure de sodium à 10 g/l.

Dilutions de saponine (ou autre hémolysant) dans la solution de chlorure de sodium à 10 gl : 1/10 000, 1/20 000, jusqu'à 1/100 000.

(*) PONDER (124) p. 177.

Technique

Dans une série de tubes Pyrex, introduire successivement en mélangeant après chaque addition :

(Dilution variable de saponine	0,8 ml
(NaCl à 10 g/l	0,8 ml
(Suspension globulaire au 1/20	0,4 ml

Au moment de l'addition des hématies, faire partir un chronomètre et noter le temps nécessaire pour une hémolyse complète. Les observations doivent s'étendre pour des dilutions donnant une hémolyse complète en des temps allant de 5 secondes à 300 minutes.

Construire la courbe qui permet, par des calculs appropriés, de déterminer les valeurs des constantes n et k . Elle permet aussi de connaître la valeur de la concentration x d'hémolysant donnant une hémolyse complète de 100 p. 100 dans un temps infini.

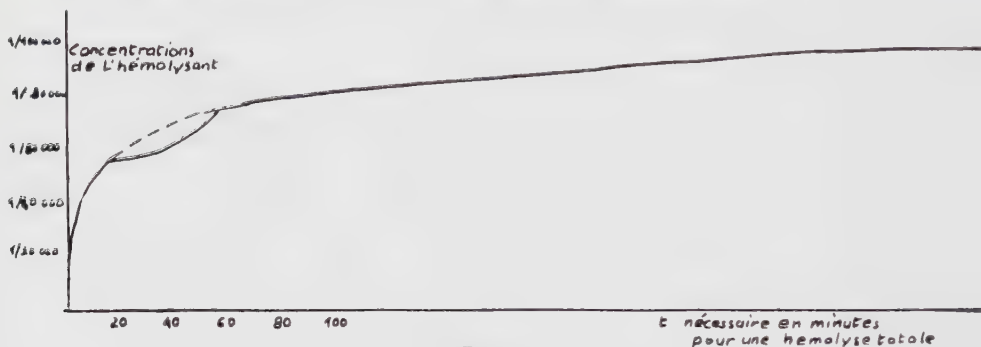


FIG. 6

Courbe Temps — Dilution PONDER -- (124) p. 182 — Tableau XIV

2/ COURBES DE POURCENTAGE D'HEMOLYSE

Principe

Ces courbes décrivent la réaction entre le temps et le nombre de globules rouges hémolysés, pour une concentration déterminée d'hémolysant.

Les globules rouges hémolysés sont exprimés en pourcentage du nombre total et leur nombre est déterminé par le pourcentage d'hémoglobine libérée et dosée photométriquement ; PARPART et SASLOW (*) ont en effet démontré que le globule perd son hémoglobine rapidement et qu'il y a une relation directe entre le nombre de globules rouges hémolysés et la quantité totale d'hémoglobine libérée. D'autres expériences ont aussi montré le danger des numérations dans le cas d'hémolyse par des solutions hypotoniques, des fragments de globules pouvant être comptés comme des globules, ce qui augmente les erreurs des techniques de numération et rend obscure la forme de la courbe de pourcentage d'hémolyse.

(*) cités par PONDER (124) p. 201.

Technique

Introduire successivement en mélangeant après chaque addition :

- (Dilution choisie d'hémolysant, par ex. d = 50 000 0,8 ml
- (Solution de chlorure de sodium à 10 g/l 0,8 ml
- (Suspension globulaire au 1/20 0,4 ml

Déterminer après centrifugation le pourcentage d'hémolyse obtenu en des *temps variables*.

Essayer d'arrêter la réaction juste avant centrifugation par refroidissement.

Tracer la courbe.

Conclusion

Cette analyse permet d'obtenir les différentes valeurs de P/p. 100 d'hémolyse en fonction du temps.

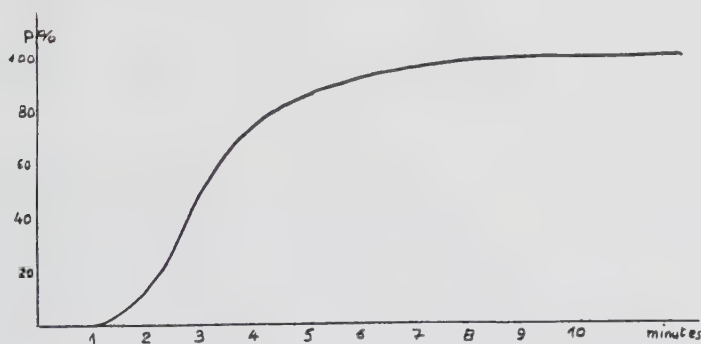


FIG. 7

Dilution choisie : 50 000 (PONDER) (124) p. 203

Courbe de pourcentage d'hémolyse.

3/ COURBE TEMPS — QUANTITE D'HEMOLYSANT UTILISE

Cette courbe est obtenue théoriquement à partir de l'expression :

$$kt = \frac{p}{p-1} \left(c^{\frac{p-1}{p}} - (c-x)^{\frac{p-1}{p}} \right)$$

Nous savons que la courbe temps — dilution donne les valeurs

de n et de k (et $n = \frac{1}{p}$)

et que la courbe temps — pourcentage d'hémolyse a été déterminée par une concentration « c ». Connaissant K, p et c, on détermine « t »

pour des valeurs arbitraires de x (0, 3, 5, 7, 10 microgrammes, etc...) ce qui permet de construire la courbe en fonction de x et de t .

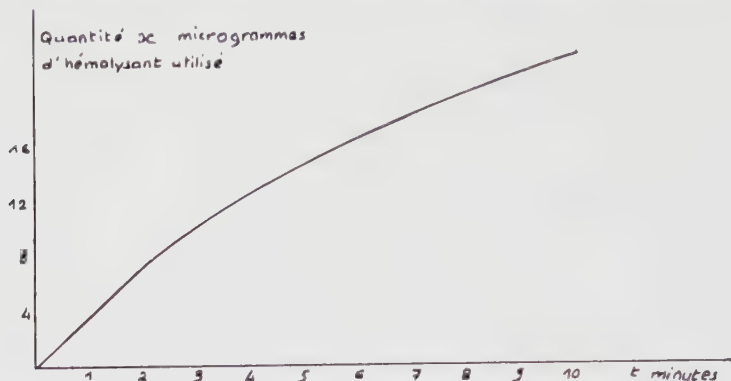


FIG. 8

Courbe théorique temps — quantité d'hémolysant utilisé —
PONDER (124) p. 204

4/ COURBE POURCENTAGE D'HEMOLYSE — QUANTITÉ D'HEMOLYSANT UTILISÉ

Puisque nous avons un graphique de P en fonction de t (courbe de pourcentage d'hémolyse) et un autre graphique de x en fonction de t (courbe temps — quantité d'hémolysant utilisé) nous pouvons établir un tableau des valeurs de P en fonction de x (courbe d'hémolyse — quantité d'hémolysant utilisé) et tracer la courbe correspondante.

Par différenciation on obtient la distribution des résistances en fonction de x , quantité d'hémolysant supposé combiné aux globules.

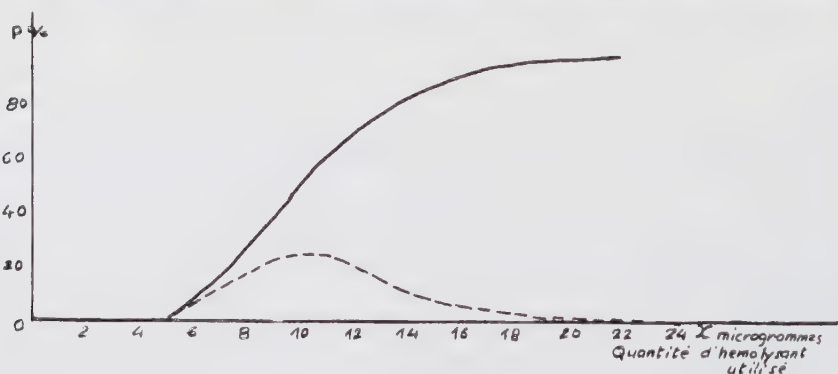


FIG. 9

PONDER (124) p. 204

En trait plein : Courbe théorique : pourcentage d'hémolyse - quantité d'hémolysant utilisé.

En pointillé : Courbe de distribution des résistances globulaires en fonction de x .

CONCLUSION GENERALE

La forme de la courbe de distribution des résistances globulaires est constante pour un système hémolytique, c'est-à-dire pour une substance lytique agissant sur une espèce de globules rouges dans des conditions standardisées (pH, température, etc...).

Les différents hémolysants donnent des distributions très différentes et de petits changements dans la composition des systèmes produisent des changements appréciables dans la forme des courbes.

Cette méthode est très utilisée pour rechercher l'action des hémolysants, comme les saponines in « vitro », dont le processus lytique est rapide, mais la difficulté de la technique et sa longueur ne se justifient pas dans l'étude des fragilités osmotiques.

ETUDE DE LA SECONDE METHODE

On utilise des solutions de plus en plus diluées pour obtenir une hémolyse de 100 p. 100 en un temps donné.

Généralités

Partant de ce principe, la plupart des techniques proposées depuis cinquante ans ont pour seul but de déterminer le début de l'hémolyse et la fin de cette hémolyse. C'est ainsi qu'en 1953, DIACONO (H) et DIACONO (G) (49) proposent ainsi la lecture des résultats :

Hémolyse initiale : premier tube dans lequel le liquide, surnageant le voile constitué par les hématies partiellement sédimentées, est coloré ;

Hémolyse totale : premier tube où n'existe ni voile, ni dépôt d'hématies et où le liquide rouge est parfaitement transparent.

MAIER (99) sensibilise cette méthode en se basant sur le fait que le sang conservé à 37° tend à s'hémolyser plus rapidement que le sang frais et il mesure la résistance osmotique après vingt-quatre heures d'incubation à 37°.

D'autres auteurs préfèrent étudier tous les tubes de la réaction. Dès 1909, LEWIS (95) utilisait cette méthode et comparait visuellement l'hémolyse produite dans chaque tube à des solutions d'hémoglobine fraîchement préparées, ce qui lui permettait de construire des courbes rappelant les courbes diamétrales de Price Jones.

L'emploi des électrocolorimètres actuels rend plus facile cette détermination. C'est la technique que nous utilisons, car elle nous permet d'établir des courbes de distribution des hématies suivant leur fragilité osmotique.

Principe de la réaction

Un très grand nombre de globules rouges, de 50 à 100 millions, sont soumis à l'action de solutions hypotoniques. On recherche les

conditions qui conduisent à la destruction de la totalité de ces érythrocytes. La réaction se fait dans une série de tubes à hémolyse et les dosages d'hémoglobine permettent d'apprécier le pourcentage d'hématies détruites dans chaque tube.

Matériel

18 tubes à hémolyse (au maximum).

1 pipette de 0,10 ml au 1/100.

2 burettes de Mohr pour la distribution facile des réactifs au 1/20.

Electrocolorimètre de Jobin et Yvon.

Réactifs

Solution A — Solution mère tamponnée à pH 7,4

(Phosphate monosodique 2 H ₂ O	2,43	g
(Phosphate disodique (PO ₄ H Na ₂)	13,655	g
(Chlorure de sodium	90	g
(Eau dist. q. s. p.	1 000	ml

Cette solution doit être conservée au réfrigérateur.

Solution B -- Au moment de l'emploi, diluer la solution mère au 1/10.

On obtient une solution osmotiquement équivalente à une solution de chlorure de sodium à 10 g par litre.

Technique

N° des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Solution B ...	3,40	3,2	3,0	2,8	2,6	2,4	2,2	2,0	1,8
Eau Dist.	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0	2,2
Sang total ...	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Concentration exprimée en g/l NaCl ..	8,5	8,0	7,5	7,0	6,5	6,0	5,5	5,0	4,5
N° des tubes	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Solution B ...	1,6	1,4	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0
Eau Dist.	2,4	2,6	2,8	3,0	3,2	3,4	3,6	3,8	4
Sang total	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	
Concentration exprimée en g/l NaCl ..	4,0	3,5	3,0	2,5	2,0	1,5	1,0	0,5	0

Répartir les réactifs selon les indications du tableau. Les mélanger par retournements des tubes avant l'introduction du sang total et ensuite après ; attendre environ 30 minutes et centrifuger à

4 000 t/m pendant 5 minutes. Lire à l'électrocolorimètre le liquide surnageant avec l'écran n° 55 correspondant à 5 500 angströms environ.

Résultats

Normalement il n'y a pas d'hémolyse dans les premiers tubes ; aucune hématie n'est détruite et ces premiers tubes fourniront le témoin 0 p. 100.

L'hémolyse est considérée comme totale dans le dernier tube qui ne contient que de l'eau distillée et du sang : ce tube constitue le témoin 100 p. 100. En réalité toutes les hématies ne sont pas détruites, mais nous en ferons abstraction, en raison de leur faible nombre.

ETUDE STATISTIQUE

Le test de résistance des hématies à l'hypotonie peut mettre en évidence l'existence d'une ou de plusieurs populations distinctes. Pour une expérience déterminée sur un lapin normal, le tableau suivant représente le pourcentage d'hémolyse obtenue en fonction de la teneur en g/l de chlorure de sodium, conformément à la technique décrite.

TABLEAU 2

g/l NaCl x	Densité optique observée (D. O.)	P % d'hémolyse F (x)
7,00	0	0
6,50	0	0
6,00	4	11,4284
5,50	15	42,8565
5,00	31	88,5701
4,50	35	99,9985
4,00	35	99,9985

Le pourcentage d'hémolyse correspond au pourcentage d'hématies détruites, comme PARPART et SASLOW (*) l'ont démontré. Si l'on porte en abscisses la teneur en g/l de chlorure de sodium (*) et en ordonnées le pourcentage d'hématies hémolysées (P %), on obtient une courbe sigmoïde qui traduit que P % est fonction de x :

$$P \% = F (x)$$

(*) Cité par PONDER (124), p. 201.

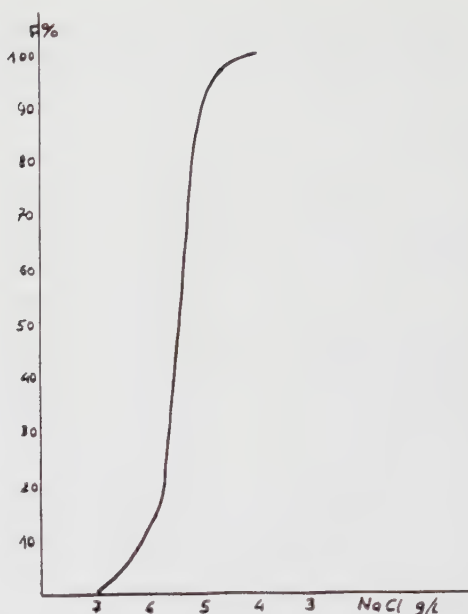


FIG. 10

*Courbe de fragilité
osmotique d'un lapin normal*

Pour une meilleure étude, il est préférable de rechercher l'augmentation d'hémolyse obtenue d'un tube au suivant, c'est-à-dire chercher la dérivée $f'(x)$ de la première courbe ; par définition la dérivée d'une fonction est son accroissement par unité de variable (11), ici la quantité 0,50 g/l de chlorure de sodium est prise comme unité de variable. On peut alors établir le tableau ci-dessous, en reprenant les données du tableau précédent :

TABEAU 3

g/l x	Différence de D. O. entre chaque tube	P % d'hémolyse détruit par tube = $f'(x)$ = fréquences
6,50	0	0
6,00	4	11,4284
5,50	16	31,4281
5,00	11	45,7136
4,50	4	11,4284
4,00	0	0

Polygone de fréquences

Il est construit de la même manière que la courbe de Price-Jones et en pratique il n'est pas nécessaire de construire l'intégrale $F(x)$.

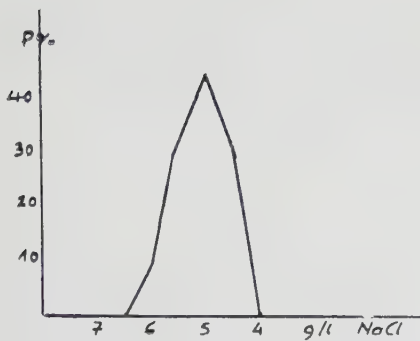


FIG. 11

*Courbe de distribution
des hématies
suivant leur résistance
globulaire à l'hypotonie*

Détermination des paramètres et courbe en cloche.

Il est possible de déterminer les paramètres suivant la technique de calcul que nous indiquons plus loin (page 115) lors de la détermination de la moyenne et de l'écart-type de la courbe de Price Jones, ce qui donnerait ici :

- (variance = 0,175
- (écart-type = 0,42
- (moyenne = 5,21

Dans le cas présent, il est beaucoup plus élégant d'opérer à partir des données réduites (97).

TABLEAU 4

NaCl g/l	f	x (Ecart sur moyenne arbitraire)	f. x	x f. x
6,00	4	+ 2	+ 8	16
5,50	11	+ 1	+ 11	11
5,00	16	0	0	0
4,50	4	- 1	- 4	4
4,00	0			
Total ..	35		+ 15	31
variance = $\frac{24,58}{35} = 0,702$			$\frac{(15)^2}{35} = 6,42$	$31 - 6,42 = 24,58$

Paramètres en données originales :

$$\begin{aligned}
 & \text{(Moyenne } = 5 + \frac{15 \times 0,5}{35} = 5,21 \quad 0,5 = \text{unité de variable} \\
 & \text{(variance } = 0,702 \times (0,5)^2 = 0,175 \quad 4 \\
 & \text{(d'où écart type } = \sqrt{0,175} = 0,42 \quad \text{et } \frac{4}{5} = 0,8
 \end{aligned}$$

Remarquons que la courbe expérimentale peut être assimilée à une courbe de GAUSS. En effet, lorsqu'une grandeur suit la loi de GAUSS, il existe les relations remarquables suivantes :

$$\text{écart moyen arithmétique} = e_a = 0,7971 \text{ s} \# \frac{4}{5} \text{ s}$$

$$\text{écart probable} = e_p = 0,6745 \# \frac{2}{3} \text{ s}$$

L'écart probable est l'écart symétrique autour de la moyenne qui contient 50 p. 100 des observations ; il est facilement déterminé sur la courbe F (x) ; l'écart moyen arithmétique se calcule de la manière suivante :

TABLEAU 5

<i>Calcul de l'écart moyen arithmétique</i> moyenne m = 5,21			
g/l NaCl x	Ecart à la moyenne (x-m)	Fréquence f	f (x-m)
6,00	0,79	4	3,16
5,50	0,29	11	3,19
5,00	0,21	16	3,36
4,50	0,71	4	2,84
Total		35	12,55

$$e_a = \frac{12,55}{35} = 0,35 \# 0,33$$

CHAPITRE IX

INFLUENCE DES DIFFERENTS FACTEURS DE LA REACTION D'HEMOLYSE A L'HYPOTONIE

Au cours de cette étude, nous établissons un certain nombre de courbes ; les données expérimentales qui nous permettent de les construire sont publiées à la fin du chapitre.

Les animaux que nous utilisons reçoivent le jour du prélèvement leur nourriture habituelle ; l'influence des produits ingérés a été démontrée par LOTTRUP (98), qui provoque chez les lapins une diminution de la résistance globulaire à l'hypotonie par une ingestion de faibles quantités de théophylline et d'eau.

L'expérimentation est conduite suivant le processus habituel ; l'animal est amené au laboratoire environ une heure avant le prélèvement.

1/ PRELEVEMENT

a) *Nature de l'anticoagulant* — Le comportement des érythrocytes est différent suivant la nature de l'anticoagulant employé lors du prélèvement ; une hématie de lapin provenant d'un sang hépariné se comporte comme un osmomètre presque parfait en sérum ou plasma hypotonique (sérum de sang défibriné ou plasma de sang hépariné). Par contre, les globules d'un sang oxalaté se comportent comme d'imparfaits osmomètres en plasma oxalaté hypotonique. Certains auteurs ont aussi étudié l'action des antihistaminiques pour la conservation du sang, mais leur action est variable sur la résistance osmotique suivant la nature du dérivé synthétique employé (STEINBUCH, 142) ; en conclusion nous prélevons le sang sur héparine dans les conditions indiquées p. 19.

b) *Les sangs veineux et capillaire* ayant une teneur différente en gaz carbonique peuvent donner de ce fait des résultats différents.

L'addition de gaz carbonique au sang produit une légère augmentation de volume qui n'est pas dénuée d'influence sur les résultats obtenus (cf page 73, paragraphe c.) ; en conséquence, nous prenons toujours le sang de la veine marginale.

2/ GLOBULE ROUGE

a) *Influence du nombre de globules introduits dans la réaction* — Des expériences ont été faites avec 0,01 et 0,02 ml de sang total de lapin — ce qui correspond dans la pratique courante, pour une même quantité de sang, à un sang normal de 4 500 000 hématies et à un sang de 2 250 000 par mm³.

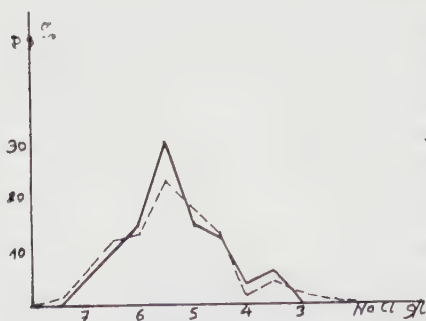


FIG. 12

Courbes expérimentales

En trait plein, courbe obtenue en mettant 0,02 ml de sang dans chaque tube de réaction.

En pointillé, courbe obtenue avec 0,01 ml de sang.

Nous savons (PONDER, 124), que le contenu globulaire et même l'hémoglobine pure agissent comme des inhibiteurs de l'hémolyse quand ils sont mélangés à des solutions hémolysantes, et que l'action de ces inhibiteurs est différente s'ils sont ajoutés avant ou au cours de la réaction ; dans ce dernier cas, le phénomène d'inhibition n'est pas très important.

Dans nos deux séries d'expériences, nous avons distribué des quantités différentes de sang et dans chaque tube la quantité d'inhibiteurs est théoriquement doublée quand on passe d'une série à l'autre, en raison du nombre d'érythrocytes hémolysés ; en fait la forme des courbes de distribution reste la même.

En conclusion nous pratiquons toujours le test de résistance globulaire à l'hypotonie avec les mêmes quantités de réactifs, même au cours de nos expériences d'intoxication par le digitonoside, où la numération globulaire varie parfois du simple au double.

b) Conservation du sang.

PONDER estime qu'une suspension globulaire dans du sérum physiologique est habituellement stable environ 6 heures à 25° et le double au réfrigérateur à + 4°.

Le sang total se conserve encore mieux et après 24 heures de conservation à + 4°, la résistance globulaire n'a pas changé.



FIG. 13

Courbes théoriques correspondantes

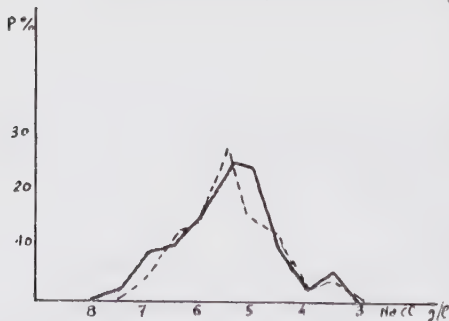


FIG. 14

Courbes expérimentales

En trait plein : expériences avec du sang frais.

En pointillé : expériences avec du sang conservé.

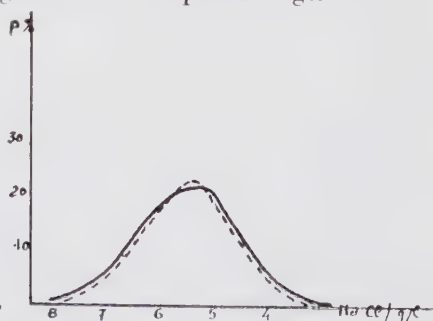


FIG. 15

Courbes théoriques

Les globules rouges conservés dans leur propre plasma à $+ 4^{\circ}$ ont une tenue excellente. La courbe en trait plein représente le résultat que nous avons obtenu lors d'expériences pratiquées immédiatement après le prélèvement.

La courbe en pointillé représente le même type d'expériences effectuées avec le même sang après conservation de 24 heures au réfrigérateur.

Ces expériences ont été faites sur des lapins anémiés expérimentalement, la démonstration paraissant plus probante. Il est donc possible de différer la réaction si l'on prend la précaution de conserver le sang total au réfrigérateur.

Au cours de la réaction, nous employons du sang total. SASLOW (136) estime en effet que les résistances globulaires à l'hypotonie des érythrocytes de lapin sont les mêmes si l'on opère avec du sang total ou avec des globules rouges de lapin lavés avec des solutions isotoniques.

c/ Influence de l'état des globules.

La fragilité des hématies dépend de leur forme. Des globules de même surface ont une résistance hypotonique d'autant plus forte que leur volume initial est plus petit ; la platycytose augmente la résistance globulaire, la sphérocytose la diminue. Il est à remarquer que les changements dans la fréquence de distribution des diamètres des hématies sont habituellement accompagnés par des changements dans la distribution de la forme des hématies. Cette étude est faite à la fin de ce travail, dans la partie expérimentale proprement dite.

3/ SOLUTION HYPOTONIQUE

La nature du milieu environnant a une grande importance, puisqu'elle conditionne la perméabilité du globule. Les propriétés osmotiques des globules dans un soluté aqueux hypotonique ne renfermant que du chlorure de sodium ne sont pas les mêmes que dans un plasma hypotonique et l'hématie en milieu salin hypotonique peut s'hémolyser à un volume critique plus petit que ne le fait l'hématie du même animal en plasma hypotonique (PONDER et ROBINSON) (*).

L'influence de la nature des cations est démontrée par les 3 courbes suivantes :

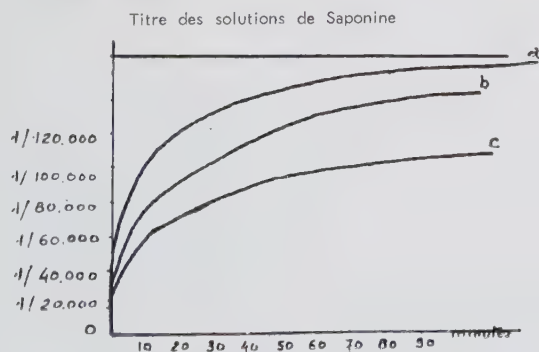


FIG. 16

PONDER (124) p. 277

Courbes temps — dilutions pour des systèmes contenant saponine et LiCl, KCl, NaCl.
(d'après GORDON)

Courbe (a) - réaction en présence de LiCl — Courbe (b) - réaction en présence de KCl — Courbe (c) - réaction en présence de NaCl.

(*) cité par PONDER (124) p. 84.

4/INFLUENCE DU pH

Le pH de la solution tampon joue un rôle dans le volume globulaire, donc dans la fragilité globulaire. HAMPSON et MAIZELS ont étudié les variations du volume de l'érythrocyte en fonction du pH à différentes tonicités.

Les volumes sont représentés en ordonnées ; ils sont notés en valeurs relatives, le volume initial V_0 étant égal à 100, la lyse se produisant au volume critique V_h .

On porte en abscisse les valeurs du pH.

La tonicité de chaque système est exprimée en pourcentage de chlorure de sodium.

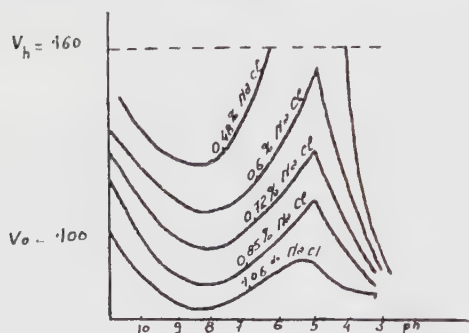


FIG. 17

PONDER (124) p. 113

*Influence de pH sur
le volume globulaire*

5/ INFLUENCE DE LA TEMPERATURE

Les effets de la température sont souvent compliqués, tant chez l'homme que chez le lapin, par une perte de potassium des cellules.

La complexité des effets de la température sur la réaction est explicitée par la figure suivante :

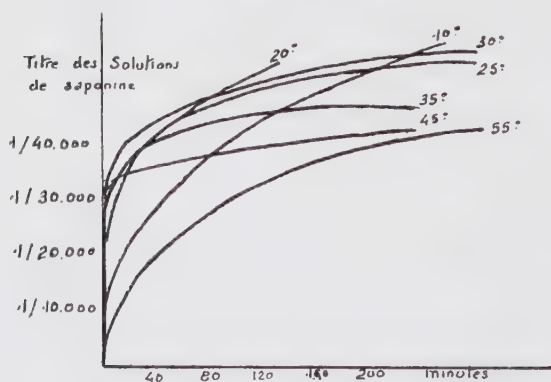


FIG. 18

PONDER (124) p. 191

*Courbes temps-dilution
à des températures variées
(système saponine et
globules humains)*

En conclusion nous décidons de pratiquer le test de fragilité osmotique à la température du laboratoire, sensiblement voisine de 18°.

6/ INFLUENCE DU TEMPS DE LECTURE

Au cours de cette expérience, nous pratiquons le test de fragilité osmotique suivant les normes habituelles, mais nous mesurons la quantité d'hémoglobine libérée dans chaque tube en fonction du temps, afin de rechercher les meilleures conditions de lecture de la réaction.

Nous constatons que l'hémolyse est d'abord rapide dans les premières minutes et qu'elle évolue ensuite lentement durant la première heure.

Les résultats sont pratiquement identiques lorsque le dosage d'hémoglobine se situe entre 15 et 45 minutes et c'est aux environs de trente minutes que nous décidons de faire par la suite nos lectures (fig. 19).

A partir de 60 minutes les résultats diffèrent nettement, comme le résume le tableau suivant :

TABLEAU 6

Tonicité NaCl g/l	P % après 30 minutes de réaction	P % après 60 minutes de réaction	P % après 120 minutes de réaction	P % après 12 heures de réaction	P % après 24 heures de réaction
8,50	0	0	0	36,66	90,32
8,00	0	0	0	46,66	96,77
7,50	0	0	0	46,66	100,00
7,00	6,90	3,44	3,57	53,33	
6,50	20,68	20,68	21,42	66,66	
6,00	41,47	41,47	41,07	76,66	
5,50	75,86	72,41	75,00	90,00	
5,00	93,10	89,65	92,85	100,00	
4,50	100,00	100,00	100,00		

En examinant les résultats de la 3^e colonne (P % après 60 minutes), on note l'affaiblissement de la coloration du premier tube où il y a hémolyse par suite de l'instabilité du pigment, base du dosage colorimétrique effectué.

Après douze heures de repos, les résultats sont totalement différents.

(Voir figure 19 page suivante)

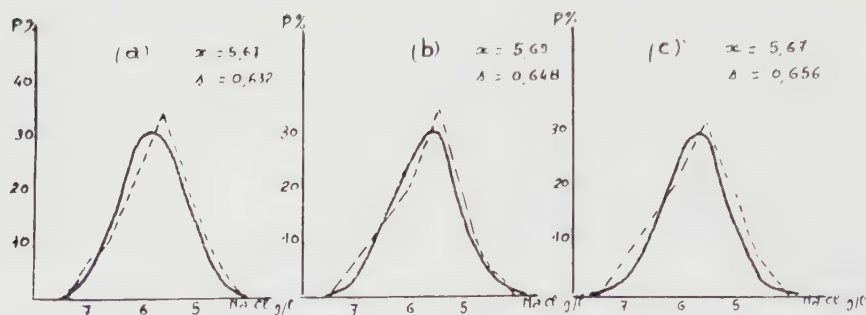


FIG. 19

Lecture
après 15 minutes
de repos (a)

Lecture
après 30 minutes
(b)

Lecture
après 45 minutes
(c)

En trait continu : courbes théoriques

En pointillé : Polygones de fréquences

CONCLUSION

En conclusion, le sang est prélevé sur héparine et nous mesurons toujours la résistance osmotique des hématies de lapin avec la même quantité de sang total ; nous le conservons au réfrigérateur à $+ 4^{\circ}$ si nous ne pouvons pas pratiquer la réaction immédiatement après le prélèvement.

Le réactif hypotonique que nous employons est à base de chlorure de sodium ; il est tamponné à pH 7,4 avec le système phosphate monosodique — phosphate disodique.

Nous faisons la réaction à la température du laboratoire et nous lisons le taux d'hémoglobine libérée dans chaque tube de réaction, après trente minutes de repos, à l'électrocolorimètre tricellule de JOBIN et YVON.

INFLUENCE DE LA QUANTITE D'HEMATIES — SANG : 0,01 ml
 ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
 DES HEMATIES DU LAPIN « N » APRES INJECTIONS DE
 SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 7

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7	5,7	+ 3	+ 17,1	51,3
6,5	10,4	+ 2	+ 20,8	41,6
6	16,1	+ 1	+ 16,1	16,1
5,5	31,1	0	0	0
5	14,6	— 1	— 14,6	14,6
4,5	12,4	— 2	— 24,8	49,6
4	3,7	— 3	— 11,1	33,3
3,5	6,0	— 4	— 24,0	96,0
3	0			
Total ..	100,00		— 20,5	302,5

Résultats en données abrégées

Moyenne : $— 20,5 / 100 = — 0,20$

Terme C : $(20,5)^2 / 100 = 4,20$

Somme des carrés :

$302,50 — 4,20 = 298,30$

Variance : $298 / 99 = 2,98$

Résultats en données originales

Moyenne :

$5,50 — (0,20 \times 0,5) = 5,40$

Variance : $2,98 \times (0,5)^2 = 0,745$

Ecart type : $\sqrt{0,745} = 0,863$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION
 DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A
 LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
 TANCE A L'HYPOTONIE APRES INJECTIONS DE SOLUTION
 CONCENTREE DE DIGITONOSIDE (LAPIN « N »).

TABLEAU 8

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 5,40			P % = 57,93 f (t)	
s = 0,863			t = 1,15 (x — 5,40)	
1/s = 1,1587			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 5,40)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8	2,60	3,012	0,0043	0,25
7,50	2,10	2,433	0,0205	1,18
7	1,60	1,853	0,0720	4,17
6,50	1,10	1,274	0,1770	10,25
6	0,60	0,695	0,3144	18,21
5,50	0,10	0,115	0,3963	22,96
5,40	0	0	0,3989	23,11

INFLUENCE DE LA QUANTITE D'HEMATIES — SANG : 0,02 ml
 ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
 DES HEMATIES DU LAPIN « N » APRES INJECTIONS DE
 SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 8 bis

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7,5	1,5	+ 4	+ 6,0	24,0
7	6,8	+ 3	+ 20,4	61,2
6,5	12,1	+ 2	+ 24,2	48,4
6	14,4	+ 1	+ 14,4	14,4
5,5	24,3	0	0	0
5	19,6	— 1	— 19,6	19,6
4,5	13,7	— 2	— 27,4	54,8
4	1,5	— 3	— 4,5	13,5
3,5	4,6	— 4	— 18,4	73,6
3	1,5	— 5	— 7,5	37,5
Total ..	100,00		— 12,4	347,0

Résultats en données abrégées

Moyenne : $-12,4 / 100 = -0,12$

Terme C : $(12,4)^2 / 100 = 1,53$

Somme des carrés :

$347 - 1,53 = 345,47$

Variance : $345 / 99 = 3,45$

Résultats en données originales

Moyenne :

$5,50 - (0,12 \times 0,5) = 5,44$

Variance : $3,45 \times (0,5)^2 = 0,862$

Ecart type : $\sqrt{0,862} = 0,928$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION
 DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A
 LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
 TANCE A L'HYPOTONIE APRES INJECTIONS DE SOLUTION
 CONCENTREE DE DIGITONOSIDE (LAPIN « N »).

TABLEAU 9

Données expérimentales		Equation de la courbe		
m = 5,44		P % = 53,935 f (t)		
s = 0,928		t = 1,07 (x — 5,44)		
l / s = 1,0787		f (t) = 1 / $\sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
NaCl g/l x	(x — 5,44)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8	2,56	2,761	0,0089	0,48
7,50	2,06	2,222	0,0335	1,80
7	1,56	1,682	0,0970	5,23
6,50	1,06	1,143	0,2080	11,21
6	0,56	0,604	0,3330	17,96
5,50	0,06	0,064	0,3982	21,47
5,44	0	0	0,3989	21,51

INFLUENCE DE LA CONSERVATION DU SANG — REACTION
FAITE AVEC DU SANG FRAIS.

ETUDE STATISTIQUE DE LA POPULATION D'HEMATIES
DETERMINEE PAR LE TEST DE RESISTANCE A L'HYPOTONIE
APRES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE
DE DIGITONOSIDE. LAPIN « M ».

TABLEAU 10

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
8	0			
7,5	1,50			
7	7,95	+ 4	+ 6,00	24,00
6,5	10,20	+ 3	+ 23,85	71,55
6	15,20	+ 2	+ 20,40	40,80
5,5	26,00	+ 1	+ 15,20	15,20
5	18,95	0	0	0
4,5	12,15	— 1	— 18,95	18,95
4	2,15	— 2	— 24,30	48,60
3,5	5,90	— 3	— 6,45	19,35
3	0	— 4	— 23,60	94,40
Total ..	100,00		— 7,85	332,85

Résultats en données abrégées

Moyenne : $— 7,85 / 100 = — 0,07$

Terme C : $(7,85)^2 / 100 = 0,61$

Somme des carrés :

$332,85 — 0,61 = 332,24$

Variance : $332 / 99 = 3,32$

Résultats en données originales

Moyenne :

$5,50 — (0,07 \times 0,5) = 5,47$

Variance : $3,32 \times (0,5)^2 = 0,83$

Ecart type : $\sqrt{0,83} = 0,911$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION
DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A
LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE APRES INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE (LAPIN « M »).

TABLEAU 11

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 5,47			P % = 55,08 f (t)	
s = 0,911			t = 1,09 (x — 5,47)	
1 / s = 1,0977			$f(t) = 1 / \sqrt{2\pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 5,47)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8	2,53	2,777	0,0086	0,47
7,50	2,03	2,228	0,0338	1,86
7	1,53	1,679	0,0975	5,37
6,50	1,03	1,130	0,2107	11,60
6	0,53	0,581	0,3372	18,57
5,50	0,03	0,329	0,3780	20,82
5,47	0	0	0,3989	21,97

INFLUENCE DE LA CONSERVATION DU SANG :
SANG CONSERVE 24 HEURES A + 4°
ETUDE STATISTIQUE DE LA POPULATION D'HEMATIES
DETERMINEE PAR LE TEST DE RESISTANCE A L'HYPOTONIE
APRES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE
DE DIGITONOSIDE. LAPIN « M ».

TABLEAU 12

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7,5	0			
7	4,55	+ 3	+ 13,65	40,95
6,5	12,30	+ 2	+ 24,60	49,20
6	15,40	+ 1	+ 15,40	15,40
5,5	29,35	0	0	0
5	15,30	— 1	— 15,30	15,30
4,5	13,85	— 2	— 27,70	55,40
4	3,05	— 3	— 9,15	27,45
3,5	4,70	— 4	— 18,80	75,20
3	1,50	— 5	— 7,50	37,50
Total ..	100,00		— 24,80	316,40

Résultats en données abrégées

Moyenne : $— 24,80/100 = — 0,24$

Terme C : $(24,80)^2 / 100 = 6,15$

Somme des carrés :

$316,40 — 6,15 = 310,25$

Variance : $310 / 99 = 3,10$

Résultats en données originales

Moyenne :

$5,50 — (0,24 \times 0,5) = 5,38$

Variance : $3,10 \times (0,5)^2 = 0,77$

Ecart type : $\sqrt{0,77} = 0,877$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION
DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A
LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE APRES INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE (LAPIN « M »).

TABLEAU 13

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 5,38			P % = 57,01 f (t)	
s = 0,877			t = 1,14 (x — 5,38)	
1 / s = 1,1403			f (t) = 1 $\sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 5,38)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8	2,62	2,987	0,0047	0,267
7,50	2,12	2,417	0,0219	1,248
7	1,62	1,847	0,0734	4,185
6,50	1,12	0,277	0,1781	10,154
6	0,62	0,707	0,3123	17,805
5,50	0,12	0,136	0,3956	22,550
5,38	0	0	0,3989	22,740

INFLUENCE DU TEMPS DE LECTURE
LECTURE APRES 15 MINUTES D'HEMOLYSE

ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DU LAPIN « N » AVANT INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABEAU 14

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7,5	0			
7	6,90	+ 3	+ 20,70	62,10
6,5	10,34	+ 2	+ 20,68	41,36
6	24,23	+ 1	+ 24,23	24,23
5,5	34,39	0	0	0
5	17,24	— 1	— 17,24	17,24
4,5	6,90	— 2	— 13,80	27,60
4	0			
Total ..	100,00		+ 34,57	172,53

Résultats en données abrégées

Moyenne : $34,57 / 100 = + 0,34$

Terme C : $(34,57)^2 / 100 = 11,95$

Somme des carrés :

$172,53 - 11,95 = 160$

Variance : $160 / 99 = 1,60$

Résultats en données originales

Moyenne :

$5,50 + (0,34 \times 0,5) = 5,67$

Variance : $1,60 \times (0,5)^2 = 0,40$

Ecart type : $\sqrt{0,40} = 0,632$

LECTURE APRÈS 30 MINUTES D'HEMOLYSE

ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DU LAPIN « N » AVANT INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABEAU 15

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7	6,90	+ 3	+ 20,70	62,10
6,5	13,78	+ 2	+ 27,56	55,12
6	20,79	+ 1	+ 20,79	20,79
5,5	34,39	0	0	0
5	17,24	— 1	— 17,24	17,24
4,5	6,90	— 2	— 13,80	27,60
4	0			
Total ..	100,00		+ 38,01	182,85

Résultats en données abrégées

Moyenne : $38,01 / 100 = + 0,38$

Terme C : $(38,01)^2 / 100 = 14,44$

Somme des carrés :

$182,85 - 14,44 = 168$

Variance : $168 / 99 = 1,68$

Résultats en données originales

Moyenne :

$5,50 + (0,38 \times 0,5) = 5,69$

Variance : $1,68 \times (0,5)^2 = 0,42$

Ecart type : $\sqrt{0,42} = 0,648$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE AVANT INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE (LAPIN « N »).

TABEAU 16

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 5,69			P % = 77,16 f (t)	
s = 0,648			t = 1,54 (x — 5,69)	
l / s = 1,5432			$f(t) = 1 / \sqrt{2\pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 5,69)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
7	1,31	2,02	0,0519	4,00
6,50	0,81	1,25	0,1827	14,09
6	0,31	0,48	0,3555	27,43
5,69	0	0	0,3989	30,77

LECTURE APRÈS 45 MINUTES D'HEMOLYSE

ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DU LAPIN « N » AVANT INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABEAU 17

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7,5	0			
7	6,90	+ 2	+ 13,80	27,60
6,5	13,78	+ 1	+ 13,78	13,78
6	20,79	0	0	0
5,5	30,94	— 1	— 30,94	30,94
5	20,69	— 2	— 41,38	82,76
4,5	6,90	— 3	— 20,70	62,10
4	0			
Total . .	100,00		— 65,44	217,18

Résultats en données abrégées

Moyenne :

$$- 65,44 / 100 = - 0,65$$

Terme C : $(65,44)^2 / 100 = 42,82$

Somme des carrés :

$$217,18 - 42,82 = 174$$

Variance : $174 / 99 = 1,74$

Résultats en données originales

Moyenne :

$$6 - (0,65 \times 0,5) = 5,675$$

Variance : $1,74 \times (0,5)^2 = 0,43$

Ecart type : $\sqrt{0,43} = 0,656$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE AVANT INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE (LAPIN « N »).

TABEAU 18

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 5,67			P % = 76,22 f (t)	
s = 0,656			t = 1,524 (x — 5,67)	
1 / s = 1,524			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 5,67)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
7	1,33	2,02	0,0519	3,95
6,50	0,83	1,26	0,1804	13,75
6	0,33	0,50	0,3521	26,83
5,67	0	0	0,3989	30,40

CHAPITRE X

NUMERATION GLOBULAIRE

INTRODUCTION

La numération globulaire est une méthode dont le principe est très simple : on dilue du sang dans des pipettes de précision et l'on décompte les hématies au moyen d'une cellule hématimétrique.

MALASSEZ pense qu'une telle opération faite correctement ne comporte pas plus de 2 p. 100 d'erreur et NEWHAM et HARVEY admettent le même résultat (cité par BOCAGE, 20). En fait on estime actuellement que les causes d'erreur sont nombreuses et le pourcentage d'erreur beaucoup plus important, ± 7 p. 100 d'après MAGARTH, BERKSON et HURN (cités par PONDER) dans les conditions habituelles optimales.

Pour pallier la longueur et l'inexactitude générale des procédés de numération (CAZAL, 36), certains auteurs ont dès lors proposé des procédés indirects : hématocrite, méthodes turbidimétriques ; mais ces méthodes ont, elles aussi, des causes d'erreur provenant de la taille et de la forme des hématies.

LAVERGNE (90) pense que la photométrie est plutôt un indice d'hématocrite qu'un indice de numération et si cette méthode indirecte a le mérite de la rapidité et de la précision de sa méthode, elle sous-estime les anémies hyperchromes, méconnaissant même tout à fait celles qui ne sont pas très intenses. GUIARD (74) estime que « la numération photométrique » a tendance à accentuer les anémies microcytaires et à minimiser les anémies macrocytaires.

En définitive, il faut que les globules rouges soient normaux en taille et en hémoglobine pour que la méthode photométrique soit plus exacte et plus sûre que la numération à cellule ordinaire (WINTROBE, cité par GUIARD) et la numération globulaire reste irremplaçable dans l'état actuel des choses ; on peut seulement la contrôler par une mesure systématique du taux d'hématocrite, comme le conseille CAZAL.

Pour donner le maximum d'exactitude au procédé de numération directe, nous étudierons les différentes causes d'erreur qui relèvent :

- 1/ du prélèvement
- 2/ du choix de l'anticoagulant
- 3/ de la précision du matériel
- 4/ de la méthode (visuelle ou photographique)
- 5/ de la répartition des érythrocytes sur la cellule hématimétrique.

1/ PRELEVEMENT

Il n'est pas indifférent de prélever le sang à la veine ou dans un capillaire. Alors que chez un sujet normal et dans des conditions normales la répartition est la même, RINGENBACH (134) note que dans les cas d'hypertension artérielle simple la concentration des hématies est environ 30 p. 100 plus forte dans le sang capillaire que dans le sang veineux.

Dans une autre étude le même auteur (133) recherche les effets de l'altitude et il constate que si la polyglobulie du sang capillaire est classique, la polyglobulie n'existe, dans aucun cas, dans le sang veineux : le taux des hématies se révèle normal ou même abaissé.

Ces différences semblent plus réduites au niveau du système de circulation de l'oreille du lapin et nous prélevons dans la veine marginale de l'oreille seulement dans la mesure du possible.

2/ CHOIX DE L'ANTICOAGULANT

	(Chlorure de sodium	7,0	g
	(Citrate de sodium	5,0	g
— Sérum I H T.	(Chlorure de potassium ...	0,2	g
	(Sulfate de magnésium ...	0,04	g
	(Eau bidist. q. s. p.	1 000	g

VLADOS (147) constate, avec ce réactif, que le nombre des hématies, ainsi que le taux d'hémoglobine ont tendance à diminuer. Cette réduction varie suivant le temps de conservation et le degré de dilution du sang. Il note, dans le même temps, la disparition des leucocytes, les neutrophiles étant les plus stables.

— Fluorure et oxalate.

L'emploi d'anticoagulants, comme le fluorure et l'oxalate, sont aussi très critiqués par RINGENBACH (134) qui démontre par des études comparatives que l'on peut obtenir des chiffres d'hématies inférieurs de 25 à 30 p. 100 au chiffre réel. Il propose la méthode suivante : ponction veineuse à l'aide d'une seringue sèche, sans adjonction d'anticoagulant, prélèvement direct immédiat à la pipette dans le sang de la seringue et décompte des hématies sans délais.

Dans un certain nombre de numérations, nous avons effectué une dilution directe de sang frais et dans les autres cas nous avons employé l'héparine comme anticoagulant.

3/ PRECISION DU MATERIEL

BOCAGE (20) pense que l'on surestime souvent les erreurs techniques provenant des inégalités des instruments employés et des maladresses de l'opérateur.

Les erreurs de dilution peuvent être théoriquement éliminées par l'emploi de pipettes calibrées et vérifiées ; le moyen de vérification le plus simple est de faire avec la pipette, une dilution au 1/100 d'un colorant quelconque et de la comparer, au photomètre,

avec une solution identique faite à l'aide d'une pipette de précision et d'un ballon jaugé.

Chaque cellule hématimétrique peut aussi être contrôlée ; on vérifie d'abord, avec un oculaire micrométrique que la distance entre les deux lignes du réseau est bien celle qui est indiquée. Puis, après avoir recouvert le réseau d'une lamelle, on mesure la hauteur de la cellule au moyen de la vis micrométrique d'un microscope mis au point préalablement sur le réseau, ensuite sur la face inférieure de la lamelle (36).

En conclusion ces facteurs d'erreur, bien que non négligeables, ont une importance assez limitée, d'autant plus que nous avons toujours opéré avec les mêmes instruments et que nous effectuons nos dilutions à l'aide de micropompes.

4/ METHODE PHOTOGRAPHIQUE

Les auteurs américains MAGARTH, BERKSON et HURN (cités par PONDER, 124) ont entrepris en 1936 une étude systématique des numérations globulaires en milieu hospitalier et ils concluent que dans les conditions habituelles d'une numération de cinq cents hématies, dans une chambre unique et par la méthode visuelle :

1/ des techniciens entraînés spécialement peuvent faire des numérations environ deux fois plus précises que celles faites par des techniciens ordinaires.

2/ l'inexactitude des numérations par des employés inexpérimentés est presque toujours due à une erreur par défaut pouvant atteindre dix pour cent.

Il est possible d'éviter ce dernier pourcentage d'erreur par l'emploi d'une méthode photographique et nous décrivons à ce sujet les deux méthodes d'utilisation possibles du microscope (121).

a) Photographie de l'image virtuelle.

Dans son fonctionnement normal, le microscope donne une image virtuelle et agrandie, se formant par convention à 250 mm en avant de la pupille de sortie du microscope.

Dès 1862 VOGEL propose de photographier cette image virtuelle au moyen d'une chambre photographique dont l'objectif est mis au point sur l'infini : la coïncidence des axes optiques étant assurée, la mise au point s'effectue par le mouvement du microscope jusqu'à ce que l'image virtuelle se trouve projetée à l'infini.

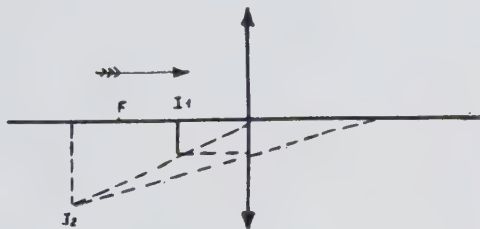


FIG. 20

Fonctionnement normal avec image finale I_2 virtuelle.

Cette technique permet d'obtenir d'excellentes préparations et tous les laboratoires possèdent le matériel nécessaire à sa réalisation, mais elle est peu employée en pratique courante pour la numération globulaire par suite des difficultés dues à l'utilisation d'un film négatif, en particulier la longue durée des manipulations de développement, la nécessité d'un agrandissement et l'impossibilité de prendre des photographies individuelles.

b/ Photographie d'une image réelle.

On peut encore utiliser le microscope de telle sorte qu'il donne une image réelle qui se trouve située en arrière de la pupille de sortie et que le verre dépoli ou le papier sensible peuvent recueillir. On obtient une telle image soit en modifiant le réglage du microscope, soit en substituant à l'oculaire convergent normal un oculaire divergent.



FIG. 21

*L'image intermédiaire I_1 se forme avant le foyer image ;
l'oculaire convergent donne l'image finale I_2 réelle.*

Si l'on accroît la distance frontale de l'objectif, l'image objective I_1 , ou « image intermédiaire », vient se former en deçà du foyer objectif F de l'oculaire, d'où la formation d'une image réelle et postérieure.

Dans l'un et l'autre cas, l'image n'est plus renversée par rapport à l'objet.

Nous avons réalisé et mis au point un appareil qui nous permet d'appliquer cette technique et de photographier rapidement à la fois les hématies et le quadrillage de la cellule utilisée.

En 1934 BOCAGE et AUBERT (21) avaient proposé une méthode leur permettant de fixer dans un temps très court la répartition des globules rouges sur la cellule hématimétrique. Ils utilisaient un microscope qui portait à la place de l'oculaire un dispositif, dit T optique, leur permettant l'utilisation simultanée d'un oculaire de projection et d'un oculaire d'observation associé, mais la mise au point ainsi effectuée ne leur permettait pas de fixer l'image du quadrillage de la cellule hématimétrique et ils obtenaient la délimitation des surfaces au moyen d'une grille faite de traits opaques tracés sur une pellicule transparente qu'ils plaçaient devant l'émulsion.

Nous avons cherché un montage qui nous évite l'inconvénient de cette grille. Le dispositif optique ne comprend qu'un seul oculaire de projection et l'image est mise au point sur un verre dépoli. Il est ainsi possible d'examiner à la fois les érythrocytes et le qua-

drillage. Tous les objectifs peuvent être utilisés et si les combinaisons de grossissement diffèrent d'une fois à l'autre, il ne s'ensuit pas d'erreur possible de délimitation de surface.

Ce montage a fait l'objet d'une première publication (131) et par la suite nous avons réalisé un appareil qui simplifie les manipulations au maximum.

Appareillage.

Sur un socle commun sont fixés : un microscope, un support de chambre photographique, une lampe d'éclairage et un transformateur d'alimentation.

La chambre photographique est montée sur un support indépendant ; il est possible de faire varier sa hauteur par rapport au microscope, ce qui permet d'obtenir, de ce fait, un grossissement variable de l'image. D'après PISON (121) le grandissement propre de la chambre se calcule par le rapport de son tirage T à 250 mm et cette valeur s'introduit dans le calcul du grandissement total :

$$G \text{ total} = G \text{ objectif} \times G \text{ oculaire} \times T / 250$$

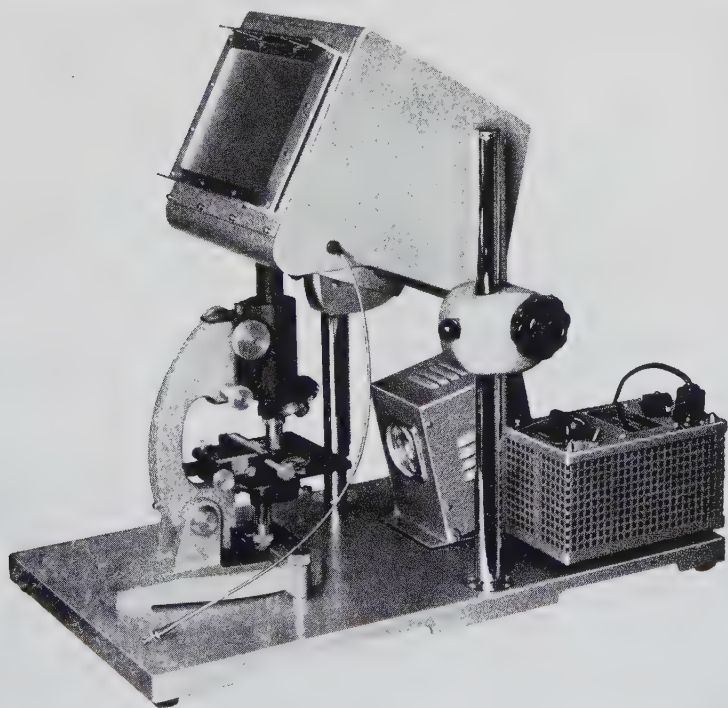


FIG. 22
Appareillage utilisé

Pour faciliter l'examen microscopique et permettre à l'observateur de conserver sa place assise habituelle, nous avons placé le verre dépoli au-dessus de l'oculaire et un peu en avant.

Le faisceau lumineux effectue son trajet dans une chambre dont les dimensions sont réduites au minimum ; dès sa sortie de l'oculaire de projection, le faisceau est dévié par un prisme vers un miroir plan dont l'inclinaison permet la projection de l'image sur l'écran.

Le parcours d'un rayon lumineux est alors le double de la longueur de la chambre.

Pour prendre une photographie nous mettons l'image au point sur le verre dépoli, puis nous plaçons un papier positif devant cet écran ; un dispositif approprié nous permet d'effectuer ce travail à la lumière du laboratoire.

La largeur de l'appareil a été calculée pour que l'on puisse utiliser un papier sensible de 13×18 centimètres, dont les dimensions nous donnent la possibilité d'opérer un décompte d'environ 1 000 hématies avec une cellule de Thoma ou de Neubauer. L'emploi d'une cellule de Malassez permet d'en dénombrer le double, mais nous préférons la cellule de Thoma qui nous permet de mieux juger la répartition des globules rouges, comme le montrent les photographies que nous avons jointes. (p. 93)

Destiné à « coiffer » le microscope dont on a enlevé le système oculaire, le montage optique que nous avons réalisé permet de faire des microprojections et de les fixer directement sur papier positif sans passer par un négatif. Pour avoir le meilleur rendement, il faut exiger le maximum de son microscope et obtenir le meilleur éclairage en suivant les règles édictées par KOHLER en 1893 et récemment rappelées par BESSIS (13).

L'éclairage uniforme intégral — Règle de KOHLER

Orienter le miroir du microscope à environ 45° , l'axe autour duquel tourne le miroir étant horizontal.

Placer la lampe à une distance comprise entre 20 et 30 cm du miroir du microscope et la régler à son intensité minimale, verre dépoli enlevé. Utiliser une ampoule 6 v 5a pouvant être survoltée à 8,5 volts.

Fermer le diaphragme-iris du microscope ; régler la position de l'ampoule électrique de telle sorte que l'image du filament vienne se former exactement dans le plan du diaphragme-iris du microscope (on regarde le miroir qui réfléchit l'image du filament). Pour avoir le meilleur centrage, l'oculaire étant enlevé, mettre un verre dépoli à sa place et varier la position du miroir. Régler le diaphragme en se servant encore du verre dépoli : le diaphragme ne doit jamais être plus ouvert que l'ouverture de l'objectif et jamais l'être moins que le $1/4$ de celle-ci.

Malgré la complication de sa description, le meilleur éclairage est ainsi obtenu très rapidement et très facile à réaliser. On peut rendre définitif ce réglage en maintenant fixes les rapports entre la lampe et le microscope, ce qui est réalisé par le constructeur quand l'éclairage est incorporé au microscope.

Il ne faut pas employer un condensateur trop puissant. Certains auteurs conseillent le condensateur complet avec les objectifs $\times 40$ et plus puissants. Pour les objectifs plus faibles, ils conseillent d'enlever la lentille frontale des condensateurs.

Applications

Pour la numération des hématies, le microscope est monté avec l'objectif $\times 10$ et le condensateur est utilisé sans lentille frontale. Avec un voltage de 5,5 v, le temps de pose est de 30 secondes, le diaphragme étant en partie fermé.

Pour la détermination des diamètres, le microscope est monté avec l'objectif $\times 60$. Le condensateur est complet et avec un voltage de 7,5 v le temps de pose est de 90 secondes, diaphragme en partie fermé.

On choisit un papier 13×18 « dur » ou « extra dur » comme papier positif que l'on place devant l'écran.

Développement de la microphotographie

Après exposition, le papier positif est mis dans une cuve renfermant le révélateur environ 2 minutes jusqu'à développement voulu. La photographie est ensuite passée dans le fixateur environ 10 minutes. Alors qu'il est nécessaire de travailler en lumière inactinique (éclairage rouge ou vert) pendant l'action du révélateur, on peut travailler en lumière blanche dès les premières minutes de fixation. Les réactifs sont portés, avant l'emploi, à une température d'environ 18° .

Réactifs pour microphotographie

De nombreuses formules ont été proposées, comme révélateur ; citons l'une d'elles :

REVELATEUR (45)

Solution A	(Sol. Bisulfite sodium à 35° Baumé	15 ml
	(Géniol	3 g
	(Hydroquinone	9 g
	(Sulfite de sodium anhydre	50 g
	(Eau dist. q. s. p.	1 000 ml
Solution B	(Carbonate de sodium anhydre	80 g
	(Bromure de potassium	2 g
	(Eau dist. q. s. p.	1 000 ml

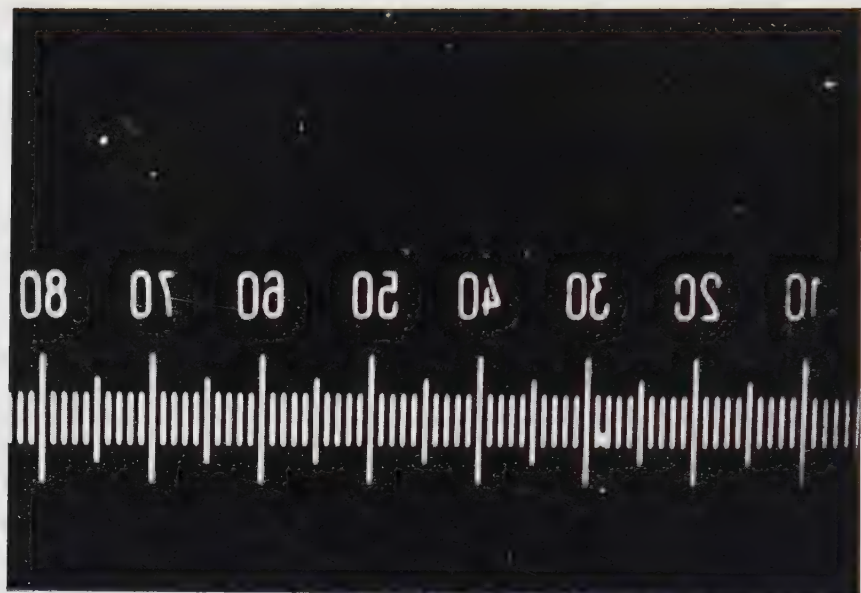
Pour emploi, mélanger :

- (1 volume sol. A
- (1 volume sol. B

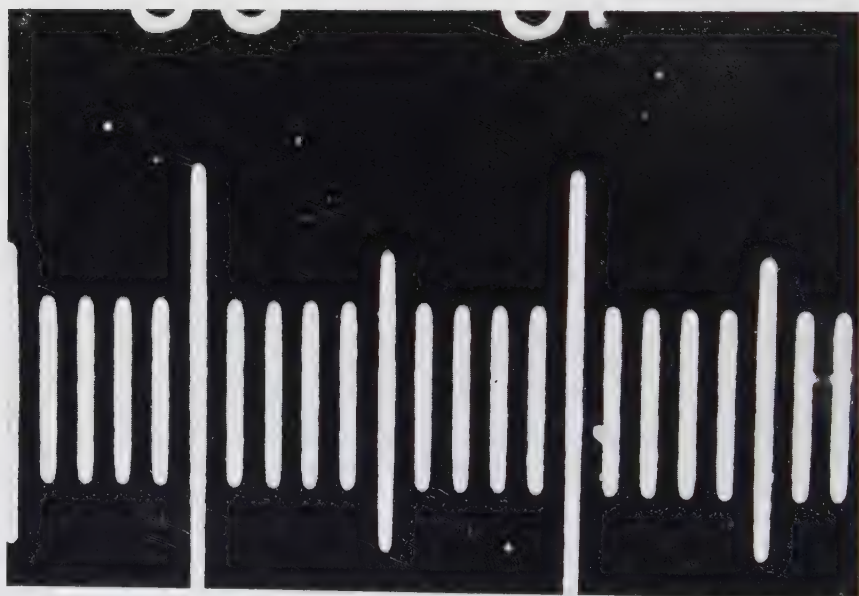
FIXATEUR (44)

(Hyposulfite de sodium	300 g
(Bisulfite de sodium	50 ml
(Eau dist. q. s. p.	1 000 ml

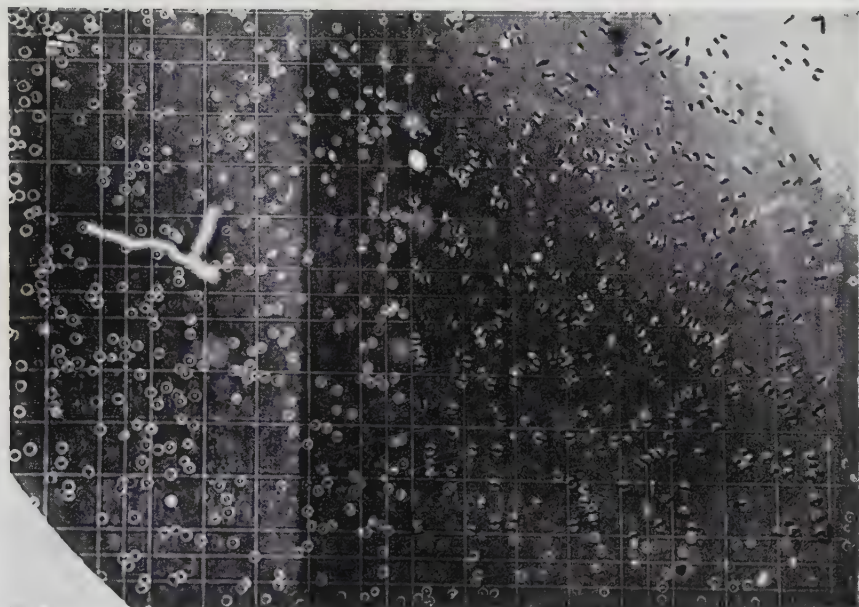
En conclusion, nous avons réalisé un montage optique qui nous permet de fixer sur un papier positif 13×18 cm à la fois l'image des globules rouges et du quadrillage de la cellule hématimétrique. Il est possible de prendre des photographies individuelles en quelques minutes, à la lumière du laboratoire.



Micromètre objectif vu à l'objectif G $\times 10$

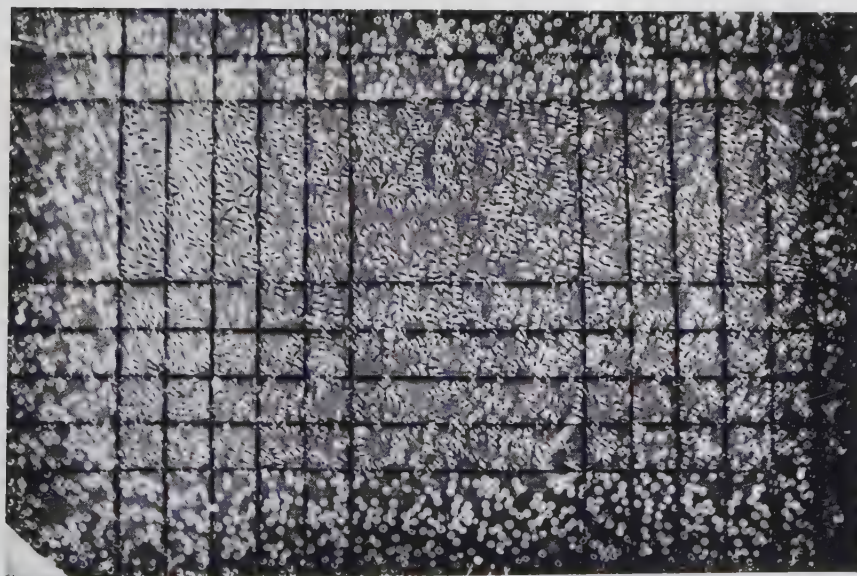


Micromètre objectif vu à l'objectif G $\times 25$



NUMERATION DE GLOBULES ROUGES (LAPIN A)

Décompte dans une cellule de Thoma — Cellules dénombrées
(341 + 344 = 685) sur deux microphotos — Résultat : 3 125 000/mm³
Comparer la répartition des hématies de ce sang anémié avec
celle d'un sang normal dans les mêmes conditions opératoires.



NUMERATION DE GLOBULES ROUGES

Décompte dans une cellule de Malassez
— Cellules dénombrées : 2 030 dans 6 rectangles
— Dilution au 1/200 — Hématies /mm³ : 6 676 000

Numération globulaire

Nous avons adopté la méthode suivante :

Réactifs

Liquide de Marciano :

(Sulfate de sodium crist. (SO_4Na_2 , 10 H_2O)	5 g
(Formol du commerce	1 ml
(Eau distillée q. s. p.	100 ml

Technique

Faire une dilution au 1/200. Après agitation, rejeter les premières gouttes.

Luter la lamelle avec un peu d'eau et déposer par capillarité 1 goutte de dilution sur la cellule de Thoma.

Mettre au point après 5 minutes de repos et photographier.

Calculs

Délimiter sur la photographie deux surfaces de 80 petits carrés.

Soit « a » la moyenne d'hématies dans 80 petits carrés.

Nombre total d'hématies par $\text{mm}^3 = a \cdot 10\,000$

En effet :

$$1 \text{ petit carré} = 1/20 \times 1/20 \times 1/10 = 1/4\,000 \text{ m}^3$$

$$80 \text{ carrés} = 80/4\,000 = 1/50 \text{ mm}^3$$

si la dilution est au 1/200 :

$$A \text{ hématies} = a \times 50 \times 200 = a \times 10\,000$$

5/ REPARTITION DES ERYTHROCYTES SUR LA CELLULE HEMATIMETRIQUE

Dans les meilleures conditions, les hématies se placent sur le quadrillage des cellules hématimétriques suivant les lois du hasard.

Quand un grand nombre de petits objets sont dispersés au hasard sur une surface divisée en plus petites surfaces, le nombre des petits

N.B. — Pour plus de précision, nous utilisons toujours le même matériel, pipette de dilution et cellule quadrillée ; pour observer plus facilement cette règle, plusieurs types de cellules ont été adoptés, évitant toute confusion :

Cellule de Thoma	pour numération des	hématies
Cellule de Malassez	»	plaquettes
Cellule de Malassez à lignes claires	»	leucocytes
Cellule spéciale (PIETTE, 118) . . .	»	réticulocytes
Cellule de Neubauer	»	éléments de la moelle.

carrés qui contiennent 0, 1, 2, 3 x objets est donné par les termes successifs de la série de Poisson :

$$e^{-m} \left(1 + \frac{m}{1!} + \frac{m^2}{2!} + \frac{m^3}{3!} + \dots + \frac{m^x}{x!} \right)$$

avec un écart type $s = m$, m étant le nombre moyen d'objets par petit carré, par exemple d'hématies.

$$\text{coefficient de variation } V = \frac{100 \sqrt{n}}{n}, \text{ } n \text{ étant le nombre}$$

d'hématies comptées.

Les déterminations actuelles de la grandeur du coefficient de variation utilisant une méthode mécanique de décompte, montrent qu'il est un peu plus petit (PONDER, 124)

$$V = \frac{92 \sqrt{n}}{n}$$

La précision de la numération augmente en conséquence en proportion du nombre de globules comptés.

Nombre de globules comptés	Coefficient de variation V %
500	4,1
1 000	2,9
2 000	2,0
4 000	1,4
8 000	1,0

En réalité les erreurs d'ordre statistique sont plus importantes et pour avoir une précision suffisante, sans toutefois s'imposer un travail trop long, GILLON (68) fait porter l'estimation visuelle sur six petits rectangles d'une cellule de Malassez, ce qui correspond à un décompte d'environ 1 500 hématies pour une dilution au 1/200 d'un sang normal.

Avec la méthode photographique, BOCAGE, FESSARD et AUBERT (22) estiment que l'erreur systématique est de ± 6 p. 100, avec une probabilité de 90 p. 100, si la numération est faite sur quatre rectangles de la cellule de Malassez pour un sang normal dilué au 1/200.

Les erreurs d'ordre statistique ont été précisées particulièrement par BOCAGE (20), dont la méthode consiste à étudier deux gouttes d'une dilution sanguine au 1/200, sortie de la même pipette mélangeuse, et à comparer les résultats obtenus sur deux hématimètres identiques.

Sur les quatre-vingt six paires de numérations effectuées, une seule fois la différence entre deux résultats a été nulle et une fois elle a atteint 33 p. 100 de la valeur moyenne. Dans 95 p. 100 des cas l'erreur est de ± 10 p. 100.

En prenant les mêmes précautions techniques, nous avons établi quelques graphiques représentant le pourcentage des petits carrés

d'une cellule de Thoma en fonction du nombre d'hématies qu'ils renferment. (Fig. 23)

Les polygones de fréquence ainsi obtenus et réunis à la fin du chapitre rappellent évidemment les courbes décrivant la loi de POISSON. Nous avons le plus souvent représenté trois graphiques sur une même ligne horizontale ; les deux premiers correspondent à l'examen de la première et la deuxième cellule hématimétrique, c'est-à-dire à un décompte d'environ cinq cents hématies chaque fois ; la troisième courbe est une synthèse des deux autres et correspond donc à un décompte d'environ mille hématies.

De l'examen de ces courbes nous concluons qu'un décompte de mille hématies est en général suffisant pour que la distribution des érythrocytes suive approximativement la loi de POISSON ; nous remarquons que dans un cas nous trouvons 4 720 000 hématies dans chaque cellule hématimétrique et l'étude du troisième graphique nous prouve que la répartition des hématies sur l'ensemble des deux cellules de Thoma est une des moins bonnes que nous avons réalisées. Nous en déduisons que l'obtention de deux résultats consécutifs identiques n'est pas nécessairement la preuve d'un chiffre exact de numération et tous les résultats que nous obtenons dans nos expériences sont contrôlés par la détermination du taux de l'hématocrite et de l'hémoglobine (23).

NUMERATION DES HEMATIES — COURBES DE DISTRIBUTION

Premier groupe

— Les courbes de distribution qui suivent ont été établies en utilisant des sangs variés et en partant de données expérimentales toujours identiques :

- (Dilution du sang au 1/200
- (Emploi d'une cellule de Thoma (toujours la même)
- (Décompte des hématies réparties sur 80 petits carrés.

— La forme des graphiques explicite les erreurs de numération dues à la répartition des érythrocytes sur le quadrillage hématimétrique ; elles sont d'autant plus grandes que l'allure de la courbe s'éloigne des courbes décrivant la loi de Poisson.

(Voir Fig. 23, 23 bis, 23 ter)

PREMIER GROUPE

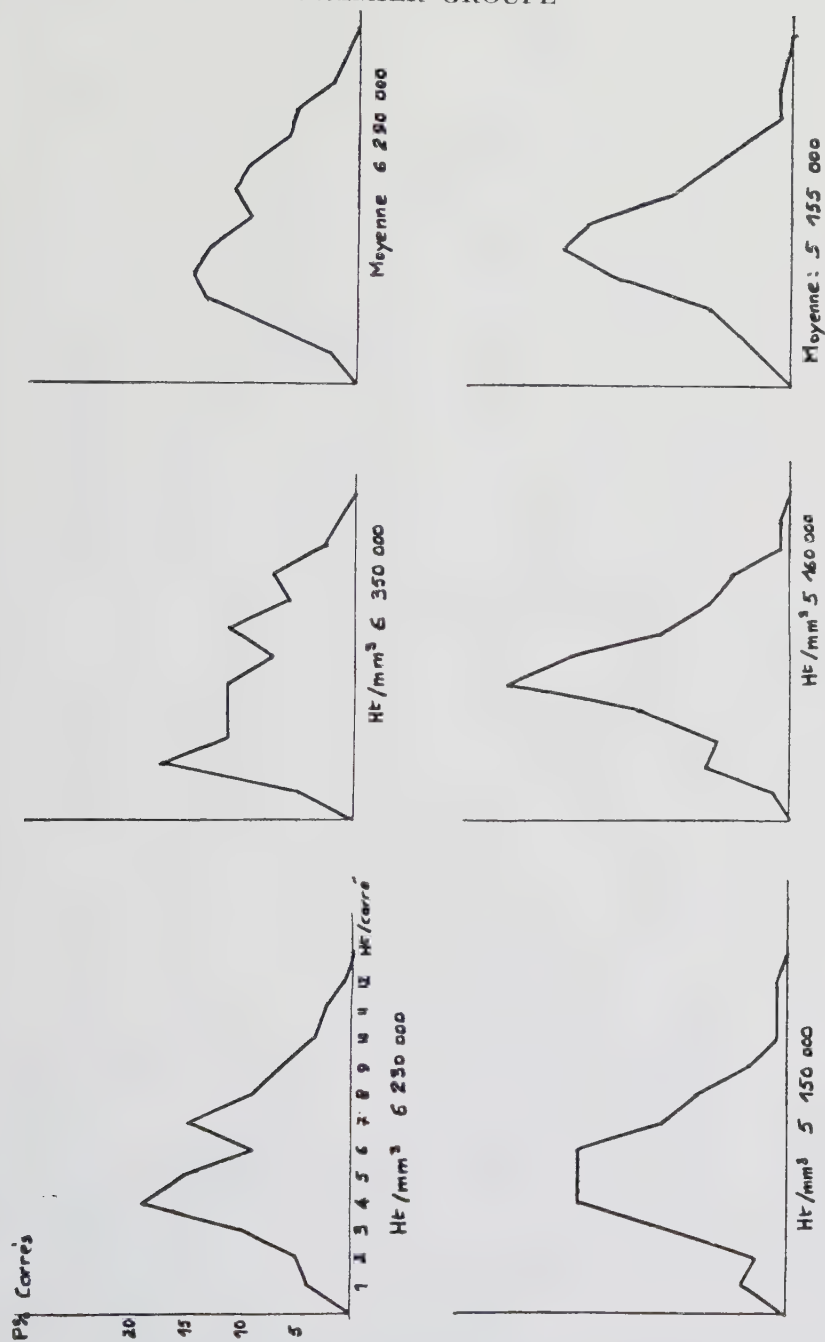


FIG. 23

- courbe de gauche : étude d'une première cellule hématimétrique ;
- courbe intermédiaire : étude d'une seconde cellule ;
- courbe de droite : synthèse des deux premières études, correspondant ainsi au décompte des hématies réparties sur 160 petits carrés, soit environ 1 000 hématies pour un sang normal.

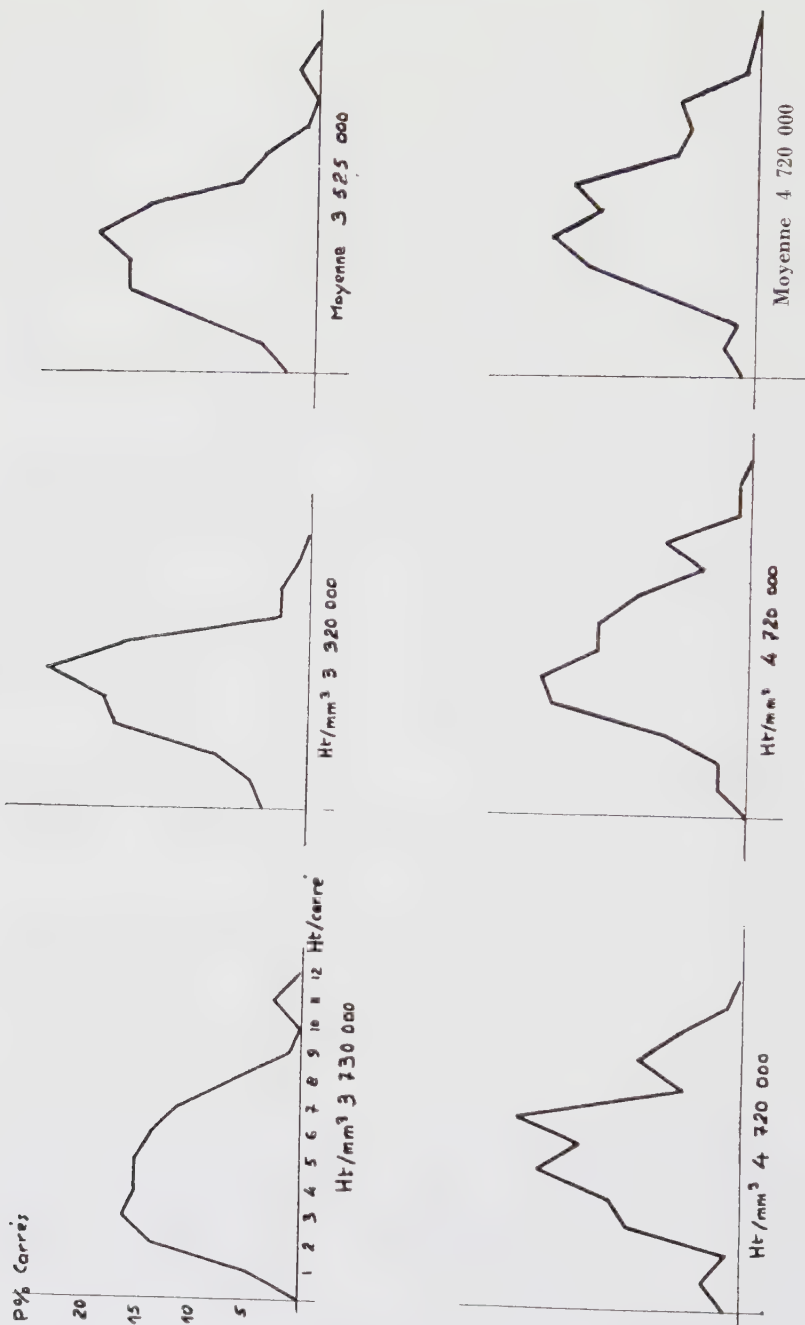


FIG. 23 bis

- courbe de gauche : étude d'une première cellule hématimétrique ;
- courbe intermédiaire : étude d'une seconde cellule ;
- courbe de droite : synthèse des deux premières études, correspondant ainsi au décompte des hématies réparties sur 160 petits carrés, soit environ 1 000 hématies pour un sang normal.

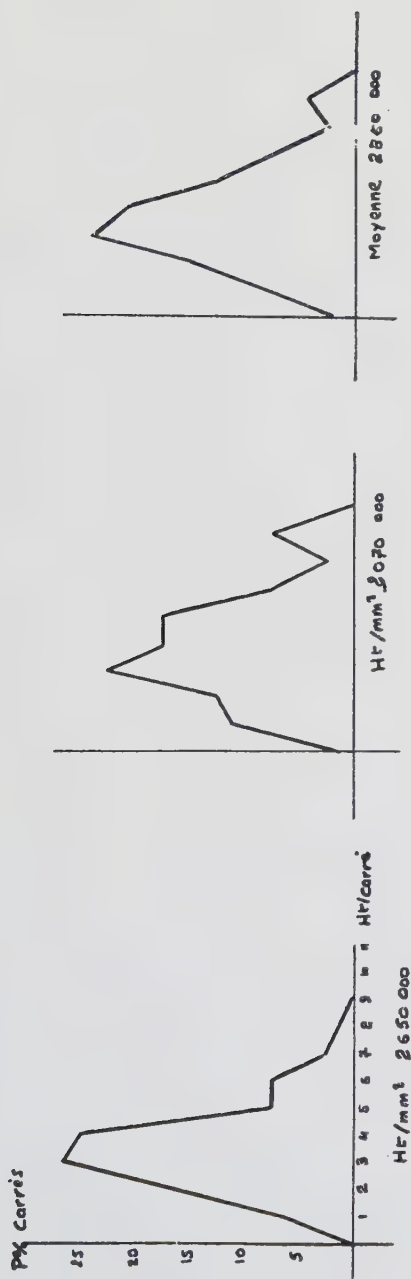
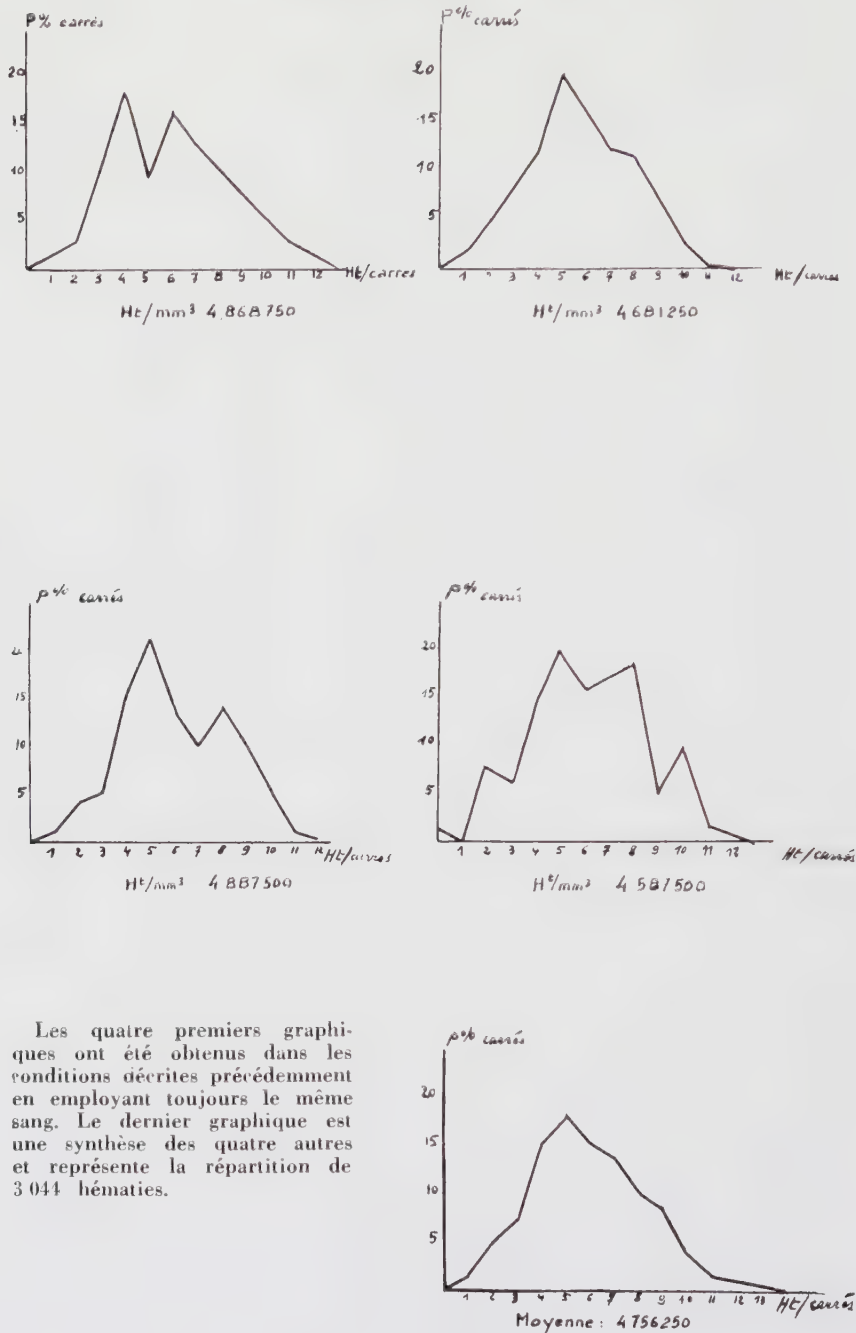


FIG. 23 ter

- courbe de gauche : étude d'une première cellule hématométrique ;
- courbe intermédiaire : étude d'une seconde cellule ;
- courbe de droite : synthèse des deux premières études, correspondant ainsi au décompte des hématies réparties sur 160 petits carrés, soit environ 1 000 hématies pour un sang normal.

DEUXIEME GROUPE



Les quatre premiers graphiques ont été obtenus dans les conditions décrites précédemment en employant toujours le même sang. Le dernier graphique est une synthèse des quatre autres et représente la répartition de 3 044 hématies.

Distribution obtenue avec un échantillon de 3044 hématies

FIG. 24

CHAPITRE XI

DETERMINATION DU DIAMETRE ERYTHROCYTAIRE

En 1658 SWAMMERDAM découvrait les globules rouges et vers 1674 son compatriote VAN LEUWENHOECK donnait pour la première fois une valeur du diamètre érythrocytaire qu'il estimait au 1/30 de celui d'un grain de sable, correspondant à 8 microns selon la nomenclature actuelle (105). Peu de méthodes ont été publiées pour cette détermination. La méthode diffractométrique fut décrite en 1813 par YOUNG pour mesurer l'épaisseur des fibres de laine et le diamètre des globules rouges (124). Il obtenait alors un résultat assez mauvais de 5 microns au lieu de 7,5 chez l'homme et la méthode fut oubliée complètement. En 1918 PIJPER sans avoir, semble-t-il, connaissance des travaux de YOUNG, calcula la relation entre le diamètre moyen « d » des hématies et le diamètre « D » des cercles de diffraction. Il trouvait un diamètre compris entre 6 et 7 microns, ce qui est un peu faible. Cette mesure n'est pas à proprement parler un examen courant en pratique hématologique en raison de quelques difficultés présentées par la méthode d'examen.

1/ Méthode indirecte.

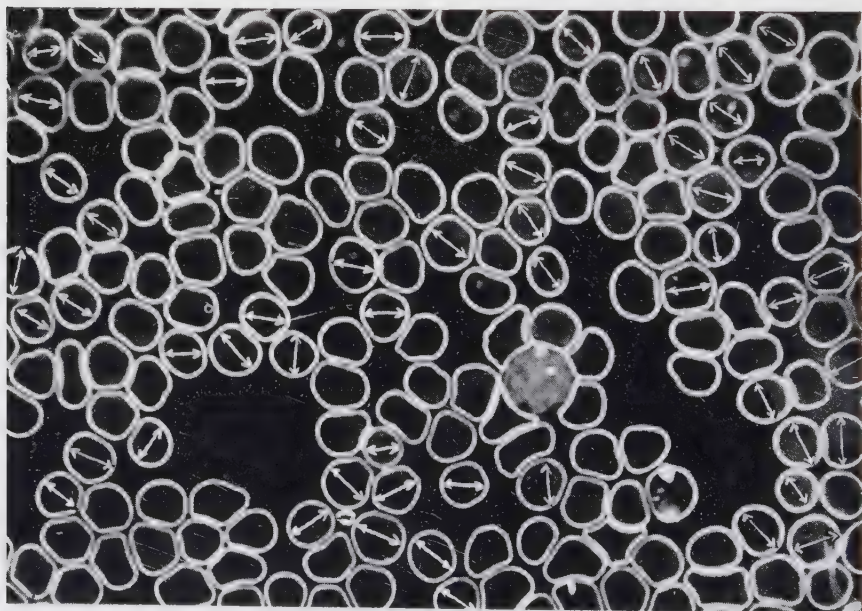
Si l'on veut se contenter d'un diamètre moyen, la mesure indirecte par diffractométrie de PIJPER offre l'avantage d'un dépistage rapide des anomalies diamétrales, mais elle reste tout de même assez imprécise, malgré ses perfectionnements (hémodiffractomètre de TZANCK et BESSIS) (145). Les cercles de diffraction sont d'autant plus nets que les hématies ont un diamètre identique et il s'ensuit qu'en cas de forte anisocytose les cercles sont flous et difficiles à mesurer. Par ailleurs, le diamètre moyen obtenu est en réalité le diamètre le plus fréquent : il correspond en effet, au sommet de la courbe de distribution des hématies suivant leur diamètre, courbe obtenue en portant en abscisses les diamètres observés et en ordonnées le pourcentage des hématies de chaque diamètre. Tracée sur un polygone des fréquences construit lui-même d'après la différence diamétrale de deux classes d'hématies, la courbe peut être asymétrique et le diamètre moyen réel ne correspond pas au diamètre le plus fréquent. C'est pourquoi certaines écoles restent fidèles à la détermination du diamètre individuel d'un certain nombre d'hématies pour le calcul du diamètre moyen, examen plus riche d'enseignements mais qui a souvent été abandonné en raison du travail qu'il demandait (PONDER, 126).

2/ Méthode directe.

Si l'on veut se contenter d'un diamètre moyen approximatif on peut, comme le recommandait LAVERGNE (89 bis), procéder par sélection, c'est-à-dire repérer sur un frottis un endroit où les hématies

de même taille prédominent nettement, et en mesurer une ou quelques-unes. Cependant la seule méthode à priori satisfaisante est celle d'une mensuration portant sur un grand nombre d'érythrocytes de taille différente, suivie de l'établissement de la courbe de Price-Jones et du calcul du diamètre moyen. Mais la mensuration proprement dite est ici l'obstacle majeur.

En effet, l'appréciation du diamètre sur l'image microscopique virtuelle au moyen d'un micromètre oculaire étalonné au préalable est difficile, fatigante et peu précise : la manœuvre du chariot du microscope est délicate et, même dans de bonnes conditions, on ne peut prétendre à une précision supérieure à 0.5 micron par lecture sur l'échelle. Il est préférable de projeter l'image du globule rouge sur un écran ou de photographier (145 bis) et de mesurer cette image avec une échelle millimétrique ou une échelle de cercles de diamètres croissants, après un étalonnage au moyen d'un micromètre objectif. On peut aussi comme CAZAL et GAMO (37) l'ont proposé mesurer le diamètre moyen par projections sur un papier millimétré. Le travail est certes facilité mais il est difficile d'obtenir une meilleure précision. Par ailleurs, on ne peut connaître le diamètre individuel ou moyen des hématies falciformes (100). Enfin, en cas d'anisocytose et de poikilocytose importantes, les difficultés deviennent vite considérables ; or, c'est justement dans ces cas qu'il convient d'opérer sur plusieurs centaines d'érythrocytes. Ce qui faisait dire en 1949 à P. E. WEIL (150) : « Toutes les méthodes, pour intéressantes qu'elles soient, ne donnent que des résultats approximatifs ».



Lapin normal : Hématies et un lymphocyte

METHODES PROPOSEES

Nous proposerons deux méthodes : l'une est basée sur le calcul des probabilités ; la seconde est une détermination précise du diamètre par planimétrie sur microphotographie. Nous signalerons la première méthode parce que nous l'avons essayée et qu'elle peut être employée ; nous l'avons abandonnée ensuite au bénéfice de la seconde méthode.

PREMIERE METHODE

Méthode basée sur le calcul des probabilités

Divers auteurs ont proposé de compter les hématies au moyen d'une cellule photoélectrique connectée à un compteur électronique. L'appareil de Mc Call et ses collaborateurs (104) est une cellule hématimétrique banale qui est déplacée, par un moteur électrique, devant l'objectif d'un microscope. L'œil est remplacé par une cellule photoélectrique et le passage d'une hématie sous l'objectif déclenche un impact électronique enregistré sur le compteur. La numération est donc automatique et se fait sur toute la surface de la cellule hématimétrique. Une modification d'un tel appareil permettrait d'obtenir un second décompte, mais cette fois ce ne serait plus la surface entière de la cellule hématimétrique qu'il faudrait parcourir comme nous allons le montrer, mais seulement une fraction déterminée de cette surface.

Considérons par exemple le quadrillage d'une cellule de Thoma et calculons la probabilité pour qu'un élément de diamètre « d » soit complètement contenu à l'intérieur de l'un des petits carrés de côté $L = 1/20$ mm. Ce problème est similaire à celui étudié par BUFFON, problème du carrelage et calcul de la probabilité pour qu'un disque (ou une pièce de monnaie) prenne une position telle qu'il soit complètement contenu à l'intérieur des carrés (75). La probabilité cherchée est estimée par le rapport entre la surface conduisant à l'événement désiré (numérateur) et la surface totale (dénominateur) :

$$p = \frac{(L - d)^2}{L^2} = \left(1 - \frac{d}{L}\right)^2$$

Dans le cas d'une cellule de Thoma, le grand carré de surface $s = 1 \text{ mm}^2$ est divisé en 400 petits carrés de $1/20$ mm de côté ($= 0,05 \text{ mm}$).

Si $L = 1/20$, on déduit le diamètre moyen « d » d'une hématie de la formule :

$$d = \frac{1 - \sqrt{p}}{20}$$

Si l'on utilise une cellule de Malassez, le calcul est le même que celui décrit pour la cellule de Thoma. Chaque petit carré a $1/20$ mm de côté, mais la cellule de Malassez est deux fois plus

profonde. Pour avoir un résultat identique avec les 2 cellules (même nombre d'éléments par unité de surface), il suffit d'employer une dilution 2 fois plus faible.

Il est facile de déterminer la probabilité :

$$p = \frac{\text{Hématies à l'intérieur d'un carré}}{\text{Hématies totales d'un carré}}$$

lors de la numération globulaire.

Technique

Après la numération globulaire, la suspension obtenue dans la pipette de POTAIN est rejetée dans un tube à hémolyse. Connaissant la moyenne des hématies par petit carré (cellule de Thoma ou Malassez, on ajoute du sérum physiologique en quantité suffisante pour que la moyenne des hématies par petit carré soit ramenée à environ 4, ceci afin d'éviter l'attraction des hématies entre elles tout en ayant un nombre d'hématies suffisant pour éviter l'emploi de plusieurs cellules...

On dénombre d'abord l'ensemble des hématies. Ensuite on dénombre les hématies qui se trouvent sur les lignes horizontales, puis on ajoute celles qui se trouvent uniquement sur les lignes verticales. Pour les hématies à cheval sur les lignes limitrophes, on ne compte que les cellules touchant deux des quatre lignes, par exemple ligne verticale gauche et ligne horizontale inférieure.

Pour une cellule double de Thoma, il y a 800 petits carrés — si l'on fait en sorte qu'il y ait environ 4 hématies par petit carré, on opérera sur environ 3 200 hématies, ce qui paraît suffisant.

Essai de la technique

Matériel — (Cellule de Thoma

(Microscope — Objectif $\times 40$ — oculaire $\times 8$

Nous étudierons le sang d'un malade atteint d'anémie de BIERMER, en traitement :

Hématies 3 755 000 / mm³

Hémoglobine 142,5 g/l soit 89 p. 100

$V_G = 1,25$

Dans la numération globulaire, on dénombre :

pour 80 carrés 352 hématies dont 122 à cheval sur l'interligne ;

pour les 80 suivants. 399 » » 125 »

Total .. 751 » » 247 »

504

751 — 247 = 504 d'où $p = \frac{504}{751} = 0,67$ ce qui correspond à $d = 8,9$ microns

d'après le tableau p. 105 ;

TABLEAU 19

Probabilité p	$\sqrt{p}$	$1 - \sqrt{p}$	Diamètre d microns	$q \doteq 1 - p$
0,7569	0,870	0,130	6,5	0,2431
0,7534	0,868	0,132	6,6	0,2466
0,7499	0,866	0,134	6,7	0,2501
0,7465	0,864	0,136	6,8	0,2535
0,7430	0,862	0,138	6,9	0,2570
0,7396	0,860	0,140	7,0	0,2604
0,7361	0,858	0,142	7,1	0,2639
0,7327	0,856	0,144	7,2	0,2673
0,7293	0,854	0,146	7,3	0,2707
0,7259	0,852	0,148	7,4	0,2741
0,7225	0,850	0,150	7,5	0,2775
0,7191	0,848	0,152	7,6	0,2809
0,7157	0,846	0,154	7,7	0,2843
0,7123	0,844	0,156	7,8	0,2877
0,7089	0,842	0,158	7,9	0,2911
0,7056	0,840	0,160	8,0	0,2944
0,7022	0,838	0,162	8,1	0,2978
0,6989	0,836	0,164	8,2	0,3011
0,6995	0,834	0,166	8,3	0,3005
0,6922	0,832	0,168	8,4	0,3078
0,6889	0,830	0,170	8,5	0,3111
0,6855	0,828	0,172	8,6	0,3541
0,6822	0,826	0,174	8,7	0,3178
0,6789	0,824	0,176	8,8	0,3211
0,6724	0,822	0,178	8,9	0,3276
0,6691	0,820	0,180	9,0	0,3309
0,6658	0,818	0,182	9,1	0,3342
0,6626	0,816	0,184	9,2	0,3374
0,6593	0,814	0,186	9,3	0,3407
0,6561	0,812	0,188	9,4	0,3439

La difficulté d'un tel décompte est due aux phénomènes de diffraction qu'il est possible de supprimer par l'emploi d'un microscope à interférences système NOMARSKI par exemple (18 et 114). Dans un décompte automatique, le quadrillage de la cellule hématimétrique peut ne pas être gravé sur le verre, puisqu'il est possible de le décrire par un parcours automatique, grâce à un moteur électrique. De plus la lumière blanche pourrait être avantageusement remplacée par une lumière de faible longueur d'onde (U.V.). La méthode est longue et délicate, mais elle pourrait être susceptible d'un montage automatique, ce qui constitue son principal intérêt. Pour apprécier sa précision rappelons qu'une méthode similaire permet de calculer la valeur de π avec six décimales exactes.

DEUXIEME METHODE

Détermination précise du diamètre érythrocytaire par planimétrie sur microphotographie.

Nous avons choisi cette méthode, qui a fait l'objet d'une publication préliminaire (130) pour l'élaboration de tout notre travail.

On peut opérer sur un étalement desséché de sang ou mesurer le diamètre des hématies en suspension. TEITEL - BERNARD (144) rapporte que les recherches de MASATAKA OHNO et celles de WIECHMANN et SCHURMEYER démontrent que le diamètre des hématies sur frottis est presque identique à celui des hématies dans leur milieu naturel. Un frottis présentant l'avantage de se conserver en permettant d'effectuer des mesures supplémentaires si besoin est, nous y avons eu recours dans ce travail.

Par ailleurs les suspensions globulaires peuvent introduire une erreur supplémentaire ; TROTTER (cité par BARER et GAFFNEY, 8) a démontré l'importance de la contamination d'un matériel de verre par la peau humaine, dûe sans doute à un acide gras ; le simple toucher d'un linge propre utilisé pour nettoyer des lames et des lamelles contamine à la fois le linge et le matériel en verre, causant la sphération des hématies, ce qui conduit à une diminution du diamètre.

En conclusion nous opérons sur un frottis desséché de sang.

Principe

L'opération comporte deux temps :

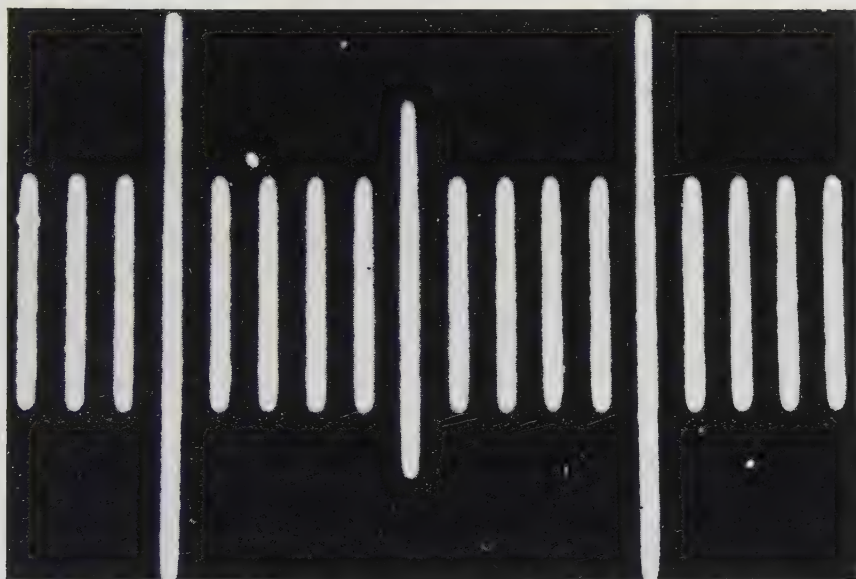
1) Projection du frottis de sang directement sur un papier photographique positif 13×18 cm, technique proposée pour les numérations globulaires (131). Avec l'appareil utilisé, il est possible de travailler à la lumière du jour et d'obtenir une photographie en 15 minutes avec simplement 5 minutes de travail effectif.

2) Au moyen de la microphotographie, il est procédé à une mesure de la surface des hématies par l'emploi d'un planimètre conçu spécialement pour des petites surfaces. Les diamètres sont déduits de tables.

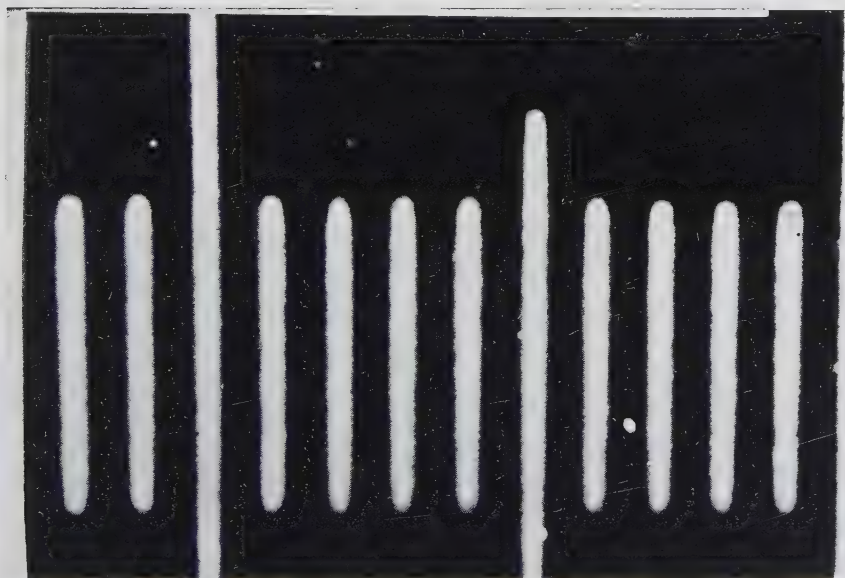
Technique

1) Etalonnage de l'appareil

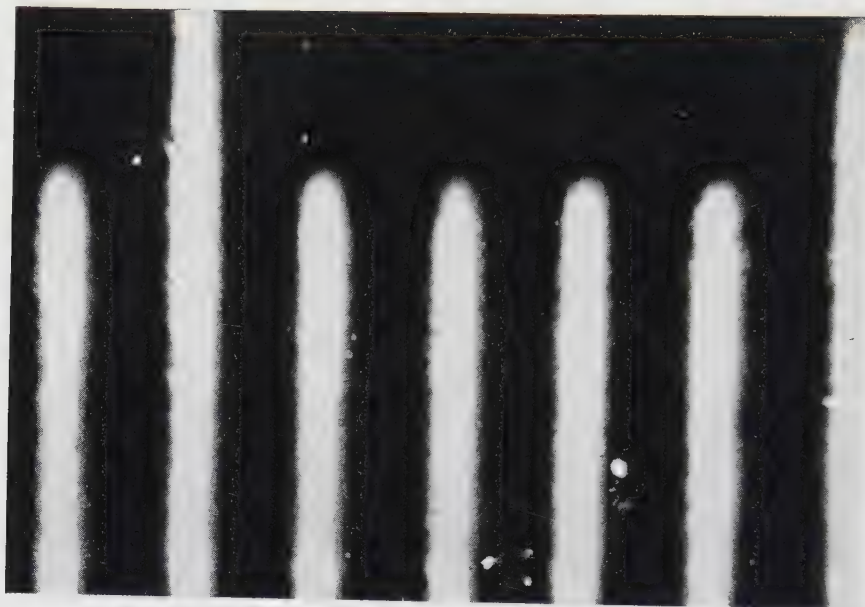
Il s'effectue au moyen d'un micromètre objectif dont l'échelle est photographiée avec l'appareil. Dans le cas présent, 100 microns donnent une image de 130 millimètres, qui peut être mesurée avec une précision excellente. Le grandissement est donc de 1 300.



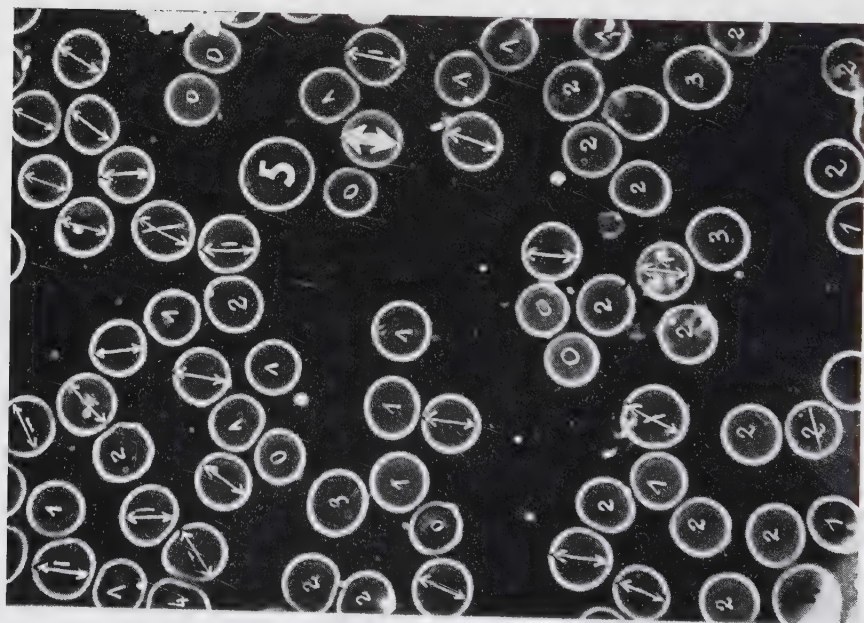
Micromètre vu à l'objectif $\times 40$



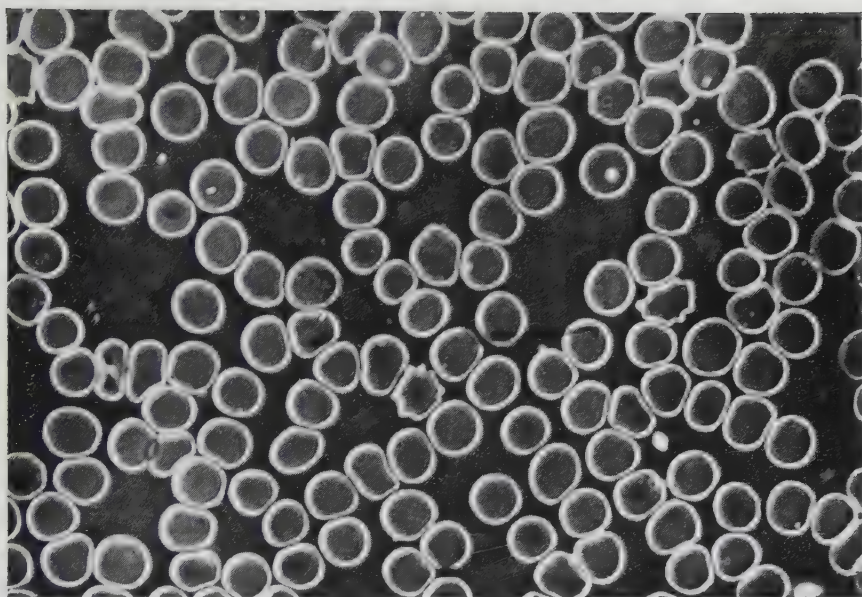
Micromètre vu à l'objectif $\times 60$



Micromètre vu à l'objectif à immersion G $\times$ 120



Objectif G $\times$ 60 — Sang humain avec anisocytose



HEMATIES D'UN LAPIN NORMAL

— Hémoglobine	127, 5 g/l (97 p. 100)
Hématies	5 400 000 / mm ³
— Hématocrite	40,4 p. 100 (v / v)
Réticulocytes	2,5 p. 100

Microphotographie pour l'étude des diamètres.

2) *Frottis et photographie*

On effectue un frottis mince, qu'on ne colore pas. Les déterminations ne devant pas se faire sur les bords du champ microscopique afin d'éviter un agrandissement supplémentaire (127), on prend une photographie de deux champs voisins : chacun comportant environ une centaine d'hématies pour un frottis normal, la planimétrie peut s'effectuer sur 50 hématies centrales ou subcentrales de chaque photographie. Le chiffre de 100 hématies peut paraître faible pour l'établissement d'une courbe de PRICE-JONES, mais la précision avec laquelle est déterminé le diamètre individuel compense très largement cette réduction du nombre par rapport à celui des autres méthodes, qui nécessitent une mesure portant habituellement sur 200 à 500 hématies suivant le degré d'anisocytose.

3) *Planimétrie*

Si l'on utilise un microscope avec le système optique habituel, l'image photographique montre les hématies entourées d'un anneau de diffraction qui ne fait évidemment pas partie de la surface érythrocytaire ; le pourtour de la cellule est très bien défini. Il suffit d'effectuer un tour complet de l'hématie en revenant au point de départ, marqué au préalable par un trait, pour obtenir sur un tambour muni d'un vernier la surface en mm².

4) *Calcul du diamètre*

La surface S est égale à $\frac{\pi d^2}{4}$, si « d » est le diamètre de

l'hématie.

Etant donné que la photographie donne d'un objet de 1 micron de longueur une image de 1,3 mm, le diamètre d'une hématie ayant une surface photographique de S mm² est égal à :

$$d = \sqrt{\frac{4 S}{\pi \times 1,3^2}} = \sqrt{0,753 S}$$

ou encore : $S = 1,327 d^2$

Le tableau 20 (p. 111) donne les résultats de ce calcul pour des surfaces sur photographie allant de 22,3 à 224,1 mm², correspondant à des diamètres érythrocytaires (échelonnés de 0,1 en 0,1 micron) allant de 4,1 à 13,0 microns, c'est-à-dire couvrant l'immense majorité des cas.

5) *Précision de la méthode*

Elle est évidemment fonction de la précision de la mesure de la surface sur la photographie. La courbe diamètres-surfaces (fig. 25, p. 112) n'est pas une droite mais une parabole (de la forme $y = ax^2$).

La partie à gauche de l'axe des ordonnées est évidemment théorique, les diamètres ayant toujours une valeur positive. Mais cette courbe visualise bien que des augmentations de diamètre de 0,1 micron, par exemple, portant sur des hématies de 5, 7,5 et 13 microns

conduisent respectivement à des augmentations de surface de 1,3 , 2 et 3,4 mm² et que les erreurs sur les mesures des surfaces n'ont qu'une répercussion atténuée sur les résultats des diamètres. La planimétrie étant par ailleurs relativement précise, on arrive à une excellente détermination de ces diamètres, comme le montre l'exemple suivant de 10 mesures effectuées sur une même hématie de taille normale, mesures effectuées sans précautions particulières, c'est-à-dire dans les conditions du travail courant.

Surface :

Moyenne arithmétique	70,3 mm ²
Valeurs extrêmes trouvées	72 et 68
Erreurs maximales	+ 1,7 et — 2,3 mm ²
Déviati on standard (écart type) .	1,25
Erreur standard	0,395

TABLEAU 20

Correspondances entre les diamètres réels (en microns) et les surfaces sur photographie (en mm²) des hématies pour une aggrandissement de 1300.

Diamètres	Surfaces	Diamètres	Surfaces	Diamètres	Surfaces
4,1	22,3	7,1	66,8	10,1	135,3
4,2	23,4	7,2	68,7	10,2	138,0
4,3	24,5	7,3	70,6	10,3	140,7
4,4	25,7	7,4	72,6	10,4	143,4
4,5	26,9	7,5	74,6	10,5	146,2
4,6	28,1	7,6	76,6	10,6	149,0
4,7	29,3	7,7	78,6	10,7	151,8
4,8	30,6	7,8	80,7	10,8	154,7
4,9	31,8	7,9	82,8	10,9	157,5
5,0	33,2	8,0	84,9	11,0	160,4
5,1	34,5	8,1	87,0	11,1	163,4
5,2	35,9	8,2	89,2	11,2	166,3
5,3	37,2	8,3	91,3	11,3	169,3
5,4	38,7	8,4	93,6	11,4	172,3
5,5	40,1	8,5	95,8	11,5	175,3
5,6	41,6	8,6	98,1	11,6	178,4
5,7	43,1	8,7	100,4	11,7	181,5
5,8	44,6	8,8	102,7	11,8	184,6
5,9	46,2	8,9	105,0	11,9	187,8
6,0	47,7	9,0	107,4	12,0	190,9
6,1	49,3	9,1	109,8	12,1	194,1
6,2	50,9	9,2	112,2	12,2	197,4
6,3	52,6	9,3	114,7	12,3	200,6
6,4	54,3	9,4	117,2	12,4	203,9
6,5	56,0	9,5	119,2	12,5	207,2
6,6	57,7	9,6	122,2	12,6	210,6
6,7	59,5	9,7	124,8	12,7	213,9
6,8	61,3	9,8	127,3	12,8	217,3
6,9	63,1	9,9	130,0	12,9	220,7
7,0	65,0	10,0	132,7	13,0	224,1

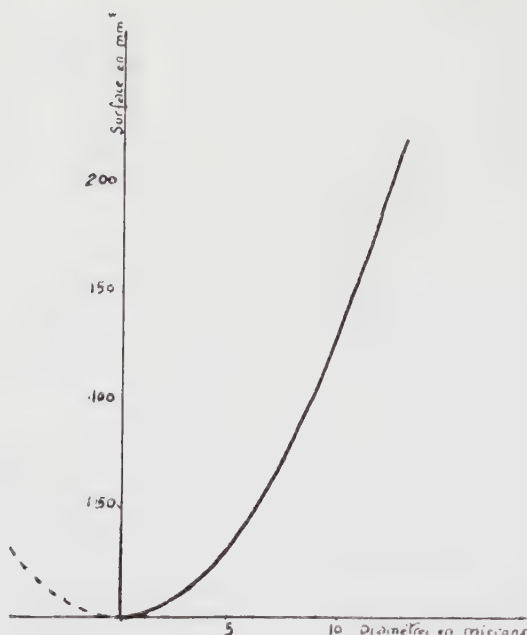


FIG. 25

Diamètre :

Moyenne arithmétique	7,27 (5)
Valeurs extrêmes trouvées	7,36 et 7,16
Erreurs maximales	+ 0,08 (5) et — 0,11 (5)
Déviation standard (écart type)	0,062
Erreur standard	0,019, soit environ 0,02

On voit qu'en ce qui concerne le diamètre, l'erreur maximale est de l'ordre de 0,1 micron, notablement inférieure à celle des mesures directes avec une règle dans les conditions d'un travail courant (environ 0,5 micron). La graduation des diamètres du tableau 20 correspond donc à une réalité pratique.

Une détermination portant sur 100 hématies permet d'avancer un chiffre de diamètre moyen comportant deux décimales.

Exemple :

Surface totale de 100 hématies : 7 327 mm²

Surface moyenne d'une hématie : 73,27 mm²

Diamètre moyen : compris entre 7,4 (72,6 mm²) et 7,5 (74,6 mm²)

L'interpolation par le calcul est permise en considérant à la rigueur comme une droite le segment de courbe diamètres-surfaces entre les deux valeurs extrêmes, ce qui donne comme résultat $7,43 \pm 0,02$.

En fait, pour des mesures précises, nous effectuons deux tours pour chaque hématie ce qui nous garantit la précision avancée.

6) Réalisation pratique

Il n'est certes pas toujours nécessaire de demander pour le diamètre moyen une précision de 0,02 micron. Etant donné que la courbe de Price-Jones se construit habituellement sur des classes de différences diamétrales de 0,5 micron, on peut procéder de même par planimétrie. Pour un sang d'individu normal, on obtient les classes suivantes :

Diamètre en microns	Surfaces en mm ²
6,0	43,8 à 51,8
6,5	51,8 à 60,4
7,0	60,4 à 69,7
7,5	69,7 à 79,7
8,0	79,7 à 90,3
8,5	90,3 à 101,6
9,0	101,6 à 113,5

Dans ces conditions, on voit immédiatement que les mesures planimétriques ne requièrent pas une très grande précision et peuvent être faites assez rapidement sans grand risque d'erreur, les écarts sur le diamètre étant toujours inférieurs à 0,5 micron.

Par ailleurs sur un sang normal, les calculs du diamètre moyen, écart type $\times 100$
de l'écart type et du coefficient d'anisocytose $\frac{\text{écart type} \times 100}{\text{diamètre moyen}}$
effectués avec des classes de différences diamétrales de 0,1 et 0,5 microns donnent les résultats suivants :

	Classe 0,1	Classe 0,5
Diamètre moyen	7,41	7,42
Ecart type	0,453	0,471
Coefficient d'anisocytose	6,11	6,35

Quant à l'établissement de la courbe de PRICE-JONES elle-même, on peut également pour le travail courant se contenter de classes de 0,5 microns. La planimétrie n'exige pas de l'expérimentateur une habileté particulière et on obtient rapidement des résultats reproductibles et exacts avec un gain de temps par rapport aux méthodes classiques.

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE ERYTHROCYTAIRE

En soulignant les différents points de la technique de planimétrie nous indiquerons les modalités du calcul statistique qui permettent d'établir la moyenne et l'écart type, ainsi que les calculs qui rendent possible le tracé de la courbe théorique à partir de ces paramètres. Nous prendrons, comme exemple, l'étude des érythrocytes du lapin « B » après vingt-deux injections de solution concentrée de Digitonoside.

Technique par planimétrie

Effectuer un frottis mince que l'on ne colore pas et faire une microphotographie. Numérotter les hématies de 1 à 100 sans faire de choix et marquer à l'encre les lignes de départ. Planimétrer ensuite chaque hématie en parcourant deux fois le périmètre et déduire le diamètre (cf tableau de correspondance p. 117) ; classer les hématies en groupes isodiamétraux différant les uns des autres par 0,5 micron.

Résultat de l'étude des érythrocytes du lapin B :

TABLEAU 21

Limites des classes (microns)	Centre des classes (microns)	Fréquences observées (lapin « B » après vingt-cinq injections)
8,25 à 8,75	8,50	1
7,75 à 8,25	8,00	3
7,25 à 7,75	7,50	9
6,75 à 7,25	7,00	28
6,25 à 6,75	6,50	23
5,75 à 6,25	6,00	10
5,25 à 5,75	5,50	13
4,75 à 5,25	5,00	3
4,25 à 4,75	4,50	4
3,75 à 4,25	4,00	5
3,25 à 3,75	3,50	1

Polygone des fréquences (Courbe de Price-Jones)

On construit le polygone des fréquences d'après les données recueillies par planimétrie. On porte en abscisses les différents diamètres (centre des classes) et en ordonnées le nombre, rapporté à 100, des hématies de chaque diamètre. Les points ainsi définis permettent de construire une ligne brisée qui est la courbe de Price-Jones, que l'on trouvera page 256 (étude expérimentale du lapin B).

Détermination des paramètres (139)

Calcul de la moyenne et de l'écart type

TABEAU 22

Valeurs successives des diamètres en microns (centres des classes)	Fréquences observées (au bas de la colonne total des fréquences = nombre des observations = $N = 100$) f	Ecart en unités arbitraires par rapport à la moyenne provisoire égale à 6,5 x	Produits des fréquences par les écarts f. x	Produits des fréquences par les carrés des écarts x. f. x
8,50	1	+ 4	+ 4	16
8,00	3	+ 3	+ 9	27
7,50	9	+ 2	+ 18	36
7,00	28	+ 1	+ 28	28
6,50	23	0	0	0
6,00	10	— 1	— 10	10
5,50	13	— 2	— 26	52
5,00	3	— 3	— 9	27
4,50	4	— 4	— 16	64
4,00	5	— 5	— 25	125
3,50	1	— 6	— 6	36
Total	$N = 100$		— 33	421

Calcul de la moyenne :

Somme algébrique des écarts = — 33

Moyenne des écarts : — 33 / 100 = — 0,33

Comme à 1 écart de 1 unité arbitraire correspond un écart de 0,5 micron :

Moyenne : 6,50 — (0,33 $\times$ 0,5) = 6,34

Calcul de l'écart type :

Somme des carrés des écarts = 421

Terme de correction C = (33)² / 100 = 10,89

Différence : 421 — 10,89 ≠ 410

Variance = 410 / 99 = 4,1 avec (N — 1) = 99

Comme 1 unité arbitraire vaut 0,5 micron,

Variance = 4,1 × (0,5) ² = 1,02

Ecart-type = √ 1,02 = 1,01

Courbe en cloche correspondant à la courbe expérimentale (Polygone des fréquences)

Il est souvent préférable de substituer au polygone des fréquences la courbe de LAPLACE-GAUSS correspondant à la même distribution statistique. Cette courbe de LAPLACE-GAUSS (CAZAL, 36) est définie par les équations générales :

$$y = \frac{100 \, d}{s} f(t) \quad ; \quad t = \frac{x - m}{s}$$

où « y » est la fréquence P %, « d » l'étendue de chaque classe (soit ici 0,5 micron), « s » l'écart type de la distribution, « m » la moyenne arithmétique, « x » la valeur variable (ici le diamètre érythrocytaire).

« t » une variable intermédiaire et f (t) la fonction $1 / \sqrt{2 \pi} e^{-\frac{t^2}{2}}$

Les valeurs types de la fonction f (t) sont données par des tables. (cf « Fonction de Laplace-Gauss », p. 118).

Connaissant m, s et d, il est facile d'établir les équations de la courbe théorique correspondant à une distribution donnée et de calculer quelques valeurs de y en fonction de x qui permettent la construction de la courbe. Comme la courbe est symétrique, on calcule quelques valeurs pour un côté de la courbe.

Mode opératoire

$$m = 6,34 \quad s = 1,01 \quad d = 0,5$$

Equation de la courbe théorique :

$$y = \frac{50}{1,01} f(t) \quad \text{soit } y = 49,505 f(t)$$

$$t = \frac{x - 6,34}{1,01} \quad \text{soit } t = 0,99010 (x - 6,34)$$

Calcul de quelques valeurs de γ :

TABLEAU 23

Diamètre x microns	Ecart à la moyenne x — 6,34	Ecart réduit x — m t = — s	f (t)	Fréquence P % y
9,0	2,66	2,623	0,0129	0,638
8,5	2,16	2,128	0,0422	2,089
8,0	1,66	1,633	0,1057	5,232
7,5	1,16	1,138	0,2085	10,321
7,0	0,66	0,643	0,3251	16,094
6,5	0,16	0,148	0,3951	19,559
6,34	0,0	0,0	0,3989	19,747

TABLEAU 24

Correspondance entre les diamètres réels (en microns) et les surfaces sur photographie (en mm²) des hématies pour un agrandissement de 1 300 et après avoir fait 2 fois le tour de l'hématie.

Surfaces	Diamètres	Surfaces	Diamètres
28,0 à 37,4	3,5	120,8 à 139,4	7,0
37,4 à 48,0	4,0	139,4 à 159,4	7,5
48,0 à 60,0	4,5	159,4 à 180,6	8,0
60,0 à 73,0	5,0	180,6 à 203,2	8,5
73,0 à 87,6	5,5	203,2 à 227,0	9,0
87,6 à 103,6	6,0	227,0 à 252,0	9,5
103,6 à 120,8	6,5	252,0 à 278,8	10,0

TABLEAU 25

FONCTION DE LAPLACE-GAUSS (65)

(extrait)

t	f (t)	t	f (t)	t	f (t)
0	0,3989	0,95	0,2541	1,95	0,0596
0,05	0,3984	1,00	0,2420	2,00	0,0540
0,10	0,3970	1,05	0,2299	2,10	0,0440
0,15	0,3945	1,10	0,2179	2,20	0,0355
0,20	0,3910	1,15	0,2059	2,30	0,0283
0,25	0,3867	1,20	0,1942	2,40	0,0224
0,30	0,3814	1,25	0,1827	2,50	0,0175
0,35	0,3752	1,30	0,1714	2,60	0,0136
0,40	0,3683	1,35	0,1604	2,70	0,0104
0,45	0,3605	1,40	0,1497	2,80	0,0079
0,50	0,3521	1,45	0,1394	2,90	0,0060
0,55	0,3429	1,50	0,1295	3,00	0,0044
0,60	0,3332	1,55	0,1200	3,20	0,0024
0,65	0,3230	1,60	0,1109	3,40	0,0012
0,6745	0,3170	1,65	0,1023	3,60	0,0006
0,70	0,3123	1,70	0,0941	3,80	0,0003
0,75	0,3011	1,75	0,0863	4,00	0,0001
0,80	0,2897	1,80	0,0790	4,50	0,0000
0,85	0,2780	1,85	0,0721		
0,90	0,2261	1,90	0,0656		

Résultats expérimentaux

Nous avons effectué les premiers essais expérimentaux de cette méthode sur du sang humain normal, afin de pouvoir comparer les valeurs trouvées à celles qui sont déterminées par les autres méthodes.

Nous ne pouvions pas comparer les valeurs calculées sur un sang de lapin ; les chiffres qui ont été publiés sur le diamètre érythrocytaire de cet animal varient en effet d'un micron et vont de six à sept microns suivant les auteurs.

PREMIERE EXPERIENCE SUR SANG HUMAIN NORMAL

1^{re} colonne : numéro de l'hématie.

2^e colonne : surface lue en mm² (ramenée à 1 seul parcours de l'hématie).

TABLEAU 26

1	75	26	85	51	99	76	103,5
	69		91		68		81
	58		76		79,5		58,5
	70		82		73,5		61,5
5	55	30	66	55	63	80	78
	96,5		84,5		101,5		81
	79,5		72		66,5		86
	68,5		73		65		76
	73		51		61		87
10	78	35	81	60	58,5	85	64
	87		83,5		69		70,5
	88		61		75		61,5
	73,5		69		65,5		72,5
	80		75		76,5		70,5
15	73	40	49	65	68,5	90	59
	71		82		92		73,5
	76,5		80,5		73,5		63,5
	75		74		77		74,5
	85		64		70		64
20	73	45	61	70	77,5	95	84
	57,5		82,5		72		50,5
	76,5		71		68,5		72,5
	74,5		77,5		78		81
	76,5		81,5		61,5		56
25	79,5	50	64	75	72,5	100	58,5

Surface totale des 100 hématies : 7 327 mm².

Surface moyenne d'une hématie : 73,27 mm².

D'après le tableau de correspondance, cette surface correspond à un diamètre compris entre 7,4 et 7,5 microns. Par interpolation, nous trouvons que le diamètre moyen est égal à 7,43 microns.

Courbe de Price-Jones

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies	Total
44,6	5,8	0	
46,1	5,9	0	
47,7	6,0	0	3
49,3	6,1	1	
50,9	6,2	2	
52,6	6,3	0	
54,3	6,4	1	
56,0	6,5	1	8
57,7	6,6	5	
59,5	6,7	1	
61,3	6,8	6	
63,1	6,9	6	
65,0	7,0	2	23
66,8	7,1	2	
68,7	7,2	7	
70,6	7,3	6	
72,6	7,4	13	
74,6	7,5	7	41
76,6	7,6	9	
78,6	7,7	6	
80,7	7,8	7	
82,7	7,9	4	
84,9	8,0	4	19
87,0	8,1	4	
89,2	8,2	0	
91,3	8,3	2	
93,6	8,4	0	
95,8	8,5	1	5
98,1	8,6	1	
100,4	8,7	1	
102,7	8,8	1	
105,0	8,9	0	
107,4	9,0	0	
109,8	9,1	0	1
112,2	9,2	0	

Ces données sont résumées dans le tableau suivant :

TABLEAU

Diamètre des hématies										
en microns	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	9,0	9,5	
Pourcentage des héma-										
ties	0	3	8	23	41	19	5	1	0	
Résultat obtenu par le calcul statistique :										
Diamètre moyen : 7,41 microns.										

SECONDE EXPERIENCE SUR SANG HUMAIN NORMAL

1^{re} colonne : numéro de l'hématie.

2^e colonne : surface lue après 2 tours d'hématie (en mm²).

TABLEAU 27

1	180	26	144	51	141	76	146
	162		130		133		155
	132		139		133		137
	152		151		160		157
5	165	30	143	55	123	80	157
	168		162		151		155
	142		130		125		143
	184		136		117		153
	154		146		160		172
10	183	35	188	60	144	85	159
	165		130		142		154
	146		156		168		165
	150		152		145		139
	167		159		150		151
15	135	40	125	65	136	90	128
	140		145		147		153
	161		165		181		187
	148		133		136		164
	154		119		146		151
20	142	45	148	70	152	95	128
	132		181		166		133
	149		144		153		148
	135		155		147		165
	140		159		153		157
25	129	50	148	75	118	100	142

Total : 14 929 mm².

Surface moyenne d'une hématie : $\frac{14\ 929}{2 \times 100} = 74,6 \text{ mm}^2$, ce qui

correspond à 7,5 microns.

Courbe de Price-Jones

Diamètre en microns	Surface en mm ² (lue après 2 t.)	Total
6,0	87,6 à 103,6	0
6,5	103,6 à 120,8	3
7,0	120,8 à 139,4	23
7,5	139,4 à 159,4	50
8,0	159,4 à 180,6	18
8,5	180,6 à 203,2	6
9,0	203,2 à 227	0

Calcul statistique

TABLEAU 28

x	f (x)	x f (x)	x ² f (x)
6	0	0	0
6,5	0,03	0,195	1,2675
7	0,23	1,610	11,2700
7,5	0,50	3,750	28,1250
8	0,18	1,440	11,5200
8,5	0,06	0,510	4,3350
9	0	0	0
Totaux ...	1,00	7,50	56,51
	$(7,5)^2 = 56,25$		

Résultat :

Diamètre moyen : 7,50

Variance = 56,51 — 56,25 = 0,26

Ecart type = $\sqrt{0,26} = 0,5$

TROISIEME EXPERIENCE SUR MEME SANG HUMAIN NORMAL

1^{re} colonne : numéro de l'hématie.

2^e colonne : surface lue après 2 tours d'hématie (en mm²).

TABLEAU 29

1	138	26	143	51	165	76	147
	118		164		160		134
	144		163		122		200
	160		153		156		177
5	172	30	108	55	160	80	142
	168		127		162		164
	149		97		216		166
	150		138		173		171
	138		136		150		150
10	109	35	152	60	137	85	155
	130		140		130		145
	122		175		169		115
	142		202		169		147
	123		157		127		169
15	169	40	147	65	178	90	168
	154		166		169		147
	128		155		132		131
	136		162		145		155
	172		175		119		164
20	143	45	179	70	173	95	173
	153		169		146		159
	139		130		179		137
	138		153		158		150
	142		156		145		164
25	164	50	151	75	150	100	149

Surface totale des 100 hématies : 7 584 mm².

Surface moyenne d'une hématie : 75,8 mm², ce qui correspond à 7,58 microns.

Courbe de Price-Jones

Diamètre en microns	Surface en mm ² (lue après 2 t.)	Total
6,0	87,6 à 103,6	1
6,5	103,6 à 120,8	5
7,0	120,8 à 139,4	21
7,5	139,4 à 159,4	36
8,0	159,4 à 180,6	34
8,5	180,6 à 203,2	2
9,0	203,2 à 227	1

$f(x)$	$x f(x)$	$x^2 f(x)$
0,01	0,060	0,360
0,05	0,325	2,1125
0,21	1,470	10,290
0,36	2,700	20,250
0,34	2,720	21,760
0,02	0,170	1,445
0,01	0,090	0,810
1,00	7,53	57,027

Résultat :

Diamètre moyen : 7,53 microns

Variance : $57,027 - (7,53)^2 = 0,326$

Ecart type $= \sqrt{0,326} = 0,57$

RESUME DES TROIS EXPERIENCES

1° Expérience — Surface totale : 7 327 mm²

2° » » » : 7 464 mm²

3° » » » : 7 584 mm²

D'où surface moyenne d'une hématie : 74,58 mm²

ce qui correspond à un diamètre de : 7,5 microns

Données pour établir la courbe de Price-Jones :

Diamètre

des hématies

en microns . 5,5 6,0 6,5 7,0 7,5 8,9 8,5 9,0 9,5

Pourcentage

des hématies. 0 1,3 5,3 22,3 42,3 23,6 4,3 0,6 0

RELIEF ET EPAISSEUR DES HEMATIES

Pour mesurer l'épaisseur des objets vus au microscope électronique, WILLIAMS et WICKOFF (*) ont introduit en 1944 la méthode de l'ombrage ; ils obtiennent des images présentant un fort contraste. DEMPSTER et WILLIAMS (**) utilisèrent aussi cette technique pour révéler les fins détails de structure ainsi que le relief cellulaire des préparations examinées au microscope optique. Ils insistèrent sur la possibilité que donne cette méthode de mesurer l'épaisseur des cellules ou parties des cellules ; en effet, connaissant l'angle

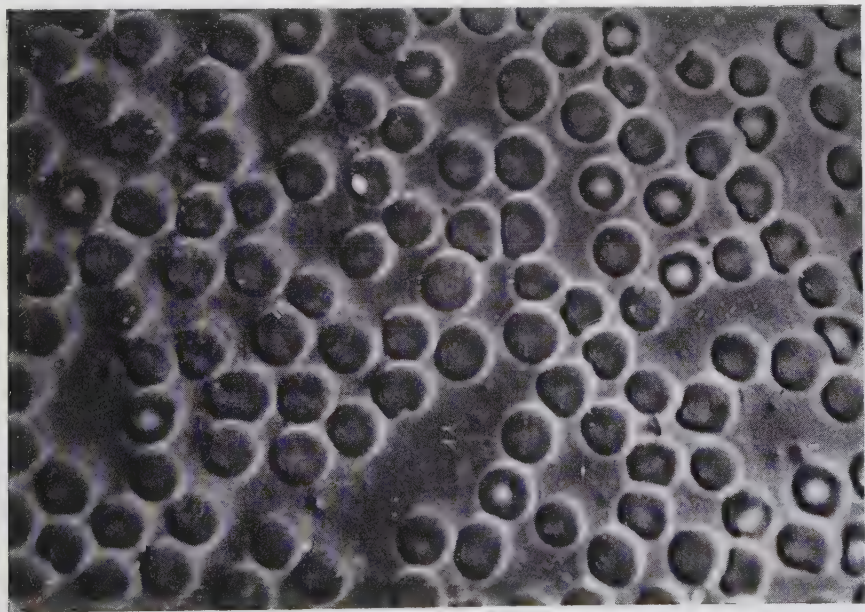
(*) Cités par Bessis (12).

de « l'ombrage », il est facile de déterminer l'épaisseur d'un objet d'après la longueur de son ombre. Enfin, avec LOCQUIN, BESSIS (12) utilise la méthode de l'ombrage, sans coloration, pour l'examen à l'aide du microscope à contraste de phase. Les images qu'ils observent sont nettement améliorées par cette technique et le relief cellulaire des globules rouges est extrêmement saisissant. Le globule rouge normal apparaît avec évidence sous sa forme de disque déprimé en son centre, ce qui l'oppose aux globules pathologiques, sphérocytes, cellules cibles, globules de l'anémie hypochrome.

Nous référant à ces techniques, nous avons essayé d'obtenir une image des globules rouges en relief avec l'appareil qui nous sert pour la numération globulaire et la mesure des diamètres.

La photographie ci-jointe montre qu'il est possible de distinguer les cellules biconcaves des sphérocytes. Ce résultat est obtenu en modifiant légèrement les conditions habituelles de travail. Il suffit, comme les auteurs cités l'indiquent, d'opérer avec un faisceau lumineux qui n'arrive plus perpendiculairement au frottis. Pour ce faire, il existe deux possibilités :

- a) agir sur le centrage du condensateur ;
- b) surélever légèrement un bord de la lame sur laquelle le sang est étalé.



Frottis sang normal

Objectif G $\times$ 60 — 1/10 mm objet correspond à 130 mm image

Connaissant la hauteur «h» de surélévation, ainsi que la longueur «l» de la lame, on en déduit l'angle du faisceau lumineux avec la perpendiculaire.

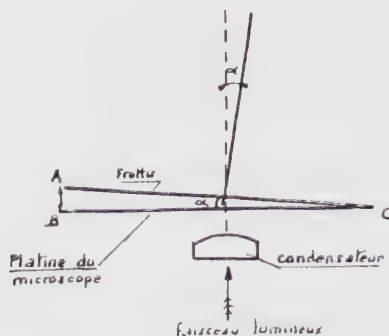


FIGURE 26

$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{A B}{B C} = \frac{h}{l}$$

L'épaisseur des hématies n'a pas été mesurée au cours de ce travail et nous avons mentionné cette technique pour montrer les possibilités du montage optique que nous proposons (page 35). Nous en déduisons par ailleurs la nécessité d'effectuer un éclairage bien parallèle de la préparation microscopique pour obtenir une bonne définition de l'image de l'élément examiné, résultat qui est recherché pour la planimétrie des hématies.

DEUXIEME PARTIE

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

ESSAIS D'INTERPRÉTATION

CHAPITRE I

ETUDE HEMATOLOGIQUE DU LAPIN NORMAL

Nous avons comme principal but l'établissement des deux courbes normales de distribution des hématies suivant leur diamètre et leur résistance à l'hypotonie.

Pour savoir si les distributions trouvées peuvent être considérées comme normales, il est nécessaire d'établir au préalable les bilans hématologiques complets des animaux examinés et de comparer les résultats obtenus à ceux déjà publiés.

Dans ce chapitre nous nous proposons de réunir les données numériques relatives au sang et à la moelle osseuse du lapin normal, d'après différents auteurs et nous-mêmes.

ETUDE DU SANG

Nous avons pris des lapins adultes pesant de 2 400 grammes à 3 560 grammes, de l'un et de l'autre sexe et soumis à une alimentation qui, actuellement, nous a paru la meilleure ; le matin, aliment composé vitaminé spécialisé ; le midi, fourrages et racines ; le soir, aliment composé vitaminé ; la boisson est donnée à volonté. Chaque lapin est isolé dans une cage, tenue bien propre, et soumise aux conditions atmosphériques variables mais tempérées d'un climat maritime. Nous verrons l'importance de ce facteur sur la lymphocytose (SALINGER, 135).

Nous présenterons les résultats en commençant par les plaquettes sanguines, qui ne donnent pas lieu à des développements particuliers. Nous verrons ensuite les leucocytes et enfin les hématies.

PLAQUETTES SANGUINES

Certains auteurs trouvent des résultats très concordants :

AYNAUD (*)		537 000	par mm ³
CASEY (**)		500 000	» »
SCARBOROUGH (**)		500 000	» »
ALTMAN (3)		533 000	» »

(*) Cité par Dumas (53).

(**) Cités par Wintrobe (151).

Résultats personnels :

N^o des lapins

Plaquettes par mm³

1		597 000
2		396 000
3		543 000
4		470 000
5		323 000
6		380 000
7		627 000
8		503 000
9		318 000
10		313 000
11		785 000

Total 5 255 000

Moyenne ... 477 000

Conclusion :

Le nombre des plaquettes présente une certaine variabilité. Les valeurs extrêmes sont respectivement 313 000 et 785 000. La valeur moyenne oscille aux environs de 500 000.

Nous avons par contre relevé des chiffres plus élevés dans les travaux de BUNTING (31), qui décompte les plaquettes par une méthode indirecte.

Lapin A ₁		800 000
— A ₂		810 000
— A ₃		730 000
— A ₄		600 000

GLOBULES BLANCS

Les moyennes publiées sont différentes et varient pour les auteurs que nous citons entre 7 400 et 9 000.

DUMAS (cité par JACOTOT, 80)	5 000 à 12 000 par mm ³	
ALTMAN (3)	9 000	» »
SCARBOROUGH (*)	7 900	» »
CASEY (*)	7 700	» »
CHEYMOL et HENRY (40)	7 400	» »

(*) Cités par Wintrobe (151).

Résultats personnels :

N° des lapins	Leucocytes par mm ³
1	5 342
2	6 550
3	11 730
4	7 250
5	6 630
6	7 750
7	5 290
8	6 090
9	8 710
10	6 920
11	5 350
12	5 060
Total	82 672
Moyenne	6 890

Conclusion :

Les valeurs extrêmes trouvées sont respectivement 5 060 et 11 730, ce qui confirme les données de DUMAS. Les polynucléaires représentent 37 p. 100 des leucocytes et les mononucléaires 63 p. 100. POUMAILLOUX et GUERITAT (128) estiment que le pourcentage normal des polynucléaires est toujours plus bas chez le lapin que chez l'homme ; JACOTOT (80) publie un tableau qui arrive aux mêmes conclusions : 48 p. 100 de polynucléaires et 52 p. 100 de mononucléaires.

Notre pourcentage élevé de lymphocytes s'explique par la proximité immédiate de la mer et SALINGER (135), qui l'a prouvé par l'examen de sujets qui venaient de la campagne, évoque une excitation des tissus lymphoïdes par les facteurs climatiques. Les proportions relatives des mononucléaires et des polynucléaires sont en effet sous l'influence de nombreux facteurs. La thyroïde, la posthypophyse et le thymus ont des effets de stimulation sur la lymphopoïèse et de frein sur la myélopoïèse, contrairement à l'antehypophyse, aux surrénales et aux parathyroïdes qui ont des effets d'excitation de la myélopoïèse et d'arrêt sur la lymphopoïèse (TRAMONTANO, cité par MAS Y MAGRO, 106).

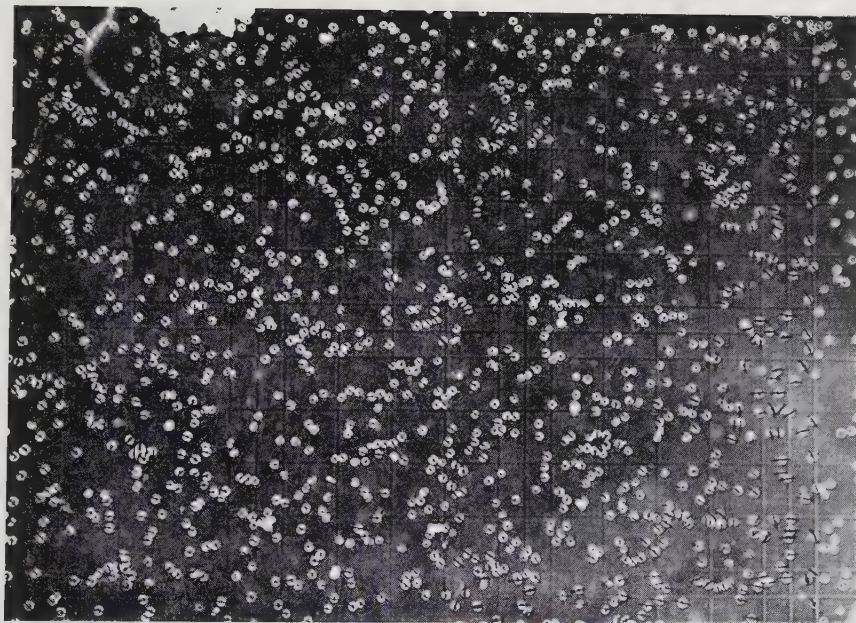
GLOBULES ROUGES (NUMERATION)

Le nombre moyen des globules rouges par millimètre cube présente chez le lapin une certaine variabilité, si l'on s'en rapporte aux nombres trouvés dans la littérature ; il oscille entre 4 300 000 et 6 290 000.

Auteurs	Nombre d'hématies par mm ³
J. JOLLY (83)	4 300 000
DUMAS (53)	5 000 000
CASEY (*)	5 370 000
CHEYMOL et HENRY (40)	5 377 000
SCARBOROUGH (*)	5 620 000
ALTMAN (3)	5 700 000
WINTROBE (151)	6 290 000

J. JOLLY (83) précise qu'à la naissance le nombre des hématies du lapin est voisin de celui de la mère ; après une augmentation de quelques jours, les chiffres reviennent vite à la normale. Nous évitons toutes les variations possibles par l'examen d'animaux dont l'âge est compris entre six mois et un an. Dans le tableau suivant, nous publions tous nos résultats. Il faut noter que les chiffres avancés par JOLLY sont nettement inférieurs à ceux des autres auteurs plus récents ; PONDER (124, p. 354) estime en effet qu'il n'était pas extraordinaire jusqu'en 1938, de trouver des erreurs de numération dépassant 10 p. 100 uniquement imputables à l'imprécision du matériel hématimétrique employé, alors qu'il est facile actuellement d'obtenir des cellules et des pipettes bien calibrées.

(*) Cités par Wintrobe (151).



NUMERATION DES HEMATIES
dans une cellule de THOMA

— Cellules décomptées	1 077
— Dilution	1/200
— Résultat — G. R./mm ₃	5 385 000
— Lapin N° 16 —	

Résultats personnels :

N° des lapins	Nombre de G. R. en millions par mm ³	Poids des lapins en grammes
1	4,53	—
2	5,15	3 560
3	6,85	—
4	5,70	3 075
5	4,12	3 105
6	4,99	3 230
7	6,20	2 985
8	5,08	2 400
9	4,54	3 390
10	4,54	3 105
11	5,40	
12	7,12	
13	4,55	
14	4,62	
15	5,32	
16	5,38	
17	7,33	
Total		9,14
Moyenne ...		5,37

Conclusion :

Le nombre des hématies varie avec chaque lapin et oscille, chez les animaux que nous avons étudiés, entre 4 120 000 et 7 330 000 par mm³. Cette différence nous explique la variabilité des moyennes calculées par divers auteurs et citées précédemment. Nous savons que pour un même individu, le chiffre des globules rouges oscille autour d'une valeur moyenne. Un phénomène rythmique, dont nous parlerons dans le chapitre consacré à la régénération sanguine, peut expliquer cette variabilité.

RESISTANCE GLOBULAIRE A L'HYPOTONIE

La littérature ne comporte pas à notre connaissance de valeur moyenne de résistance globulaire à l'hypotonie obtenue au moyen de la technique que nous avons décrite page 65. Nous avons trouvé que l'hémolyse moyenne a lieu pour une concentration en chlorure de sodium de 5,36 g/l, valeur comprise entre la résistance globulaire moyenne du rat (5,6 g/l, d'après J. JOLLY, 83) et celle de l'homme (4,2 à 4,8 g/l), cette dernière seule étant obtenue avec des solutions tamponnées.

Nous avons calculé la résistance osmotique de huit animaux. Chaque résultat individuel est rapporté dans les tableaux suivants. En partant des données expérimentales, nous déduisons les pourcentages théoriques par le calcul statistique. Les courbes ainsi obtenues se prêtent souvent mieux aux études comparatives.

**ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DU LAPIN « B » AVANT LES INJECTIONS
DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.**

TABLEAU 30

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
6,5	0			
6	10,5	+ 3	+ 31,5	94,5
5,5	29	+ 2	+ 58	116
5	42	+ 1	+ 42	42
4,5	10,5	0	0	0
4	5	— 1	— 5	5
3,5	3	— 2	— 6	12
3	0			
Total ..	100		+ 120,5	269,5

Résultats en données abrégées

Moyenne : $120,5/100 = 1,20$

Terme C : $(120,5)^2/100 = 145,2$

Somme des carrés :

$269,5 - 145,2 = 124$

Variance : $124/99 = 1,24$

Résultats en données originales

Moyenne :

$4,50 + (1,20 \times 0,5) = 5,10$

Variance : $1,24 \times (0,5)^2 = 0,31$

Ecart type : $\sqrt{0,31} = 0,557$

**DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE AVANT LES INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE - LAPIN « B ».**

TABLEAU 31

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 5,10			P % = 89,76 f (t)	
s = 0,557			t = 1,79 (x — 5,10)	
1/s = 1,7953			$f(t) = 1 / \sqrt{2\pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 5,10)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
7	1,90	3,411	0,0012	0,10
6,50	1,40	2,513	0,0171	1,53
6	0,90	1,615	0,1080	9,69
5,50	0,40	0,718	0,3080	27,64
5,10	0	0	0,3989	35,80

**ETUDE STATISTIQUE DE LA POPULATION D'HEMATIES,
DETERMINEE PAR LE TEST DE RESISTANCE A L'HYPOTONIE
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCEN-
TREE DE DIGITONOSIDE - LAPIN « C ».**

TABLEAU 32

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7	0			
6,5	1,7	+ 2	+ 3,4	6,8
6	12	+ 1	+ 12	12
5,5	38	0	0	0
5	36,2	— 1	— 36,2	36,2
4,5	10,3	— 2	— 20,6	41,2
4	1,7	— 3	— 5,1	15,3
3,5	0			
Total ..	99,9		— 46,5	111,5

Résultats en données abrégées

Moyenne : $— 46,5/100 = — 0,46$

Terme C : $(46)^2/100 = 21,16$

Somme des carrés :

$111,5 — 21,16 \neq 90$

Variance : $90/99 = 0,90$

Résultats en données originales

Moyenne :

$5,50 — (0,46 \times 0,5) = 5,27$

Variance : $0,90 \times (0,5)^2 = 0,225$

Ecart type : $\sqrt{0,225} = 0,474$

**DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE AVANT LES INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE - LAPIN « C ».**

TABLEAU 33

<i>Données expérimentales</i>			<i>Equation de la courbe</i>	
m = 5,27			P % = 105,48 f (t)	
s = 0,474			t = 2,10 (x — 5,27)	
1/s = 2,10			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 5,27)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
7,50	2,23	4,743	0	0
7	1,73	3,633	0,0006	0,06
6,50	1,23	2,583	0,0143	1,50
6	0,73	1,533	0,1238	13,05
5,50	0,23	0,483	0,3555	37,50
5,27	0	0	0,3989	42,07

**ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE DES
HEMATIES DU LAPIN « D » AVANT LES INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.**

TABLEAU 34

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7	0,66	+ 4	+ 2,64	10,56
6,50	6	+ 3	+ 18,00	54,00
6	16,66	+ 2	+ 33,32	66,64
5,50	13,33	+ 1	+ 13,33	13,33
5	46,66	0	0	0
4,50	10	— 1	— 10,00	10,00
4	0,66	— 2	— 1,32	2,64
3,50	2,66	— 3	— 7,98	23,94
3	3,33	— 4	— 13,32	53,28
Total ..	99,96		+ 34,67	234,39

Résultats en données abrégées

Moyenne : $34,67 / 100 = 0,34$

Terme C : $(34,67)^2 / 100 = 12,02$

Somme des carrés :

$$234,39 - 12,02 \neq 222$$

Variance : $222 / 99 = 2,22$

Résultats en données originales

Moyenne :

$$5 + (0,34 \times 0,5) = 5,17$$

Variance : $2,22 \times (0,5)^2 = 0,44$

Ecart type : $\sqrt{0,44} = 0,664$

**ETUDE STATISTIQUE DE LA PREMIERE POPULATION D'HE-
MATIES DETERMINEE PAR LE TEST DE RESISTANCE A
L'HYPOTONIE CHEZ UN ANIMAL NORMAL - LAPIN « D »
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE.**

TABLEAU 35

NaCl g/l	Fréquence f	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7	0,66	+ 4	+ 2,64	10,56
6,50	6,00	+ 3	+ 18,00	54,00
6	16,66	+ 2	+ 33,32	66,64
5,50	13,33	+ 1	+ 13,33	13,33
5	46,66	0	0	0
4,50	10,00	— 1	— 10,00	10,00
4	0,66	— 2	— 1,32	2,64
Total ..	93,97		+ 55,97	157,17

Résultats en données abrégées

Moyenne : $55,97 / 93,97 = 0,59$

Terme C : $(55,97)^2 / 93,97 = 33,31$

Somme des carrés :

$$157,17 - 33,31 \neq 124$$

Variance = 1,33

Résultats en données originales

Moyenne :

$$5 + (0,59 \times 0,5) = 5,29$$

Variance : $1,33 \times (0,5)^2 = 0,33$

Ecart type : $\sqrt{0,33} = 0,575$

**DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE CHEZ UN ANIMAL NORMAL
- LAPIN « D ».**

TABLEAU 36

<i>Données expérimentales</i>		<i>Equation de la courbe</i>		
m = 5,29		P % = 86,95 f (t)		
s = 0,575		t = 1,73 (x — 5,29)		
1 / s = 1,7391		$f(t) = 1 / \sqrt{2\pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
NaCl g/l x	(x — 5,29)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
7	1,71	2,9583	0,0051	0,44
6,50	1,21	2,0933	0,0449	3,90
6	0,71	1,2283	0,1895	16,47
5,50	0,21	0,3633	0,3739	32,51
5,29	0	0	0,3989	34,68

**ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DU LAPIN « E » AVANT LES INJECTIONS
DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.**

TABLEAU 37

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7,5	0			
7	4,4	+ 3	+ 13,2	39,6
6,5	14,7	+ 2	+ 29,4	58,8
6	29,4	+ 1	+ 29,4	29,4
5,5	36,8	0	0	0
5	11,8	— 1	— 11,8	11,8
4,5	2,9	— 2	— 5,8	11,6
4	0			
Total ..	100,0		+ 54,4	151,2

Résultats en données originales

Moyenne : $54,4 / 100 = 0,54$

Terme C : $(54,4)^2 / 100 = 29,59$

Somme des carrés :

$151,2 - 29,59 = 121$

Variance : $121 / 99 = 1,21$

Résultats en données abrégées

Moyenne :

$5,50 + (0,54 \times 0,5) = 5,74$

Variance : $1,21 \times (0,5)^2 = 0,30$

Ecart type : $\sqrt{0,30} = 0,557$

**DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE AVANT LES INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE - LAPIN « E ».**

TABLEAU 38

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 5,74			P % = 89,76 f (t)	
s = 0,557			t = 1,79 (x — 5,74)	
l / s = 1,7953			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-t^2}$	
NaCl g/l x	(x — 5,74)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
7,50	1,76	3,15	0,0028	0,25
7	1,26	2,25	0,0317	2,84
6,50	0,76	1,36	0,1582	14,20
6	0,26	0,46	0,3589	32,21
5,74	0	0	0,3989	35,80

**ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DU LAPIN « G » AVANT LES INJECTIONS
DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.**

TABLEAU 39

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
6,5	0			
6	3	+ 2	+ 6	12
5,5	15,5	+ 1	+ 15,5	15,5
5	44,0	0	0	0
4,5	31,0	— 1	— 31	31
4	6,5	— 2	— 13	26
Total ..	100		— 22,5	84,5

Résultats en données abrégées

Résultats en données originales

Moyenne : $— 22,5/100 = — 0,22$

Moyenne :

Terme C : $(22,5)^2 / 100 = 5,06$

$5 — (0,22 \times 0,5) = 4,89$

Somme des carrés :

$84,5 — 5,06 = 79$

Variance : $0,79 \times (0,5)^2 = 0,1975$

Variance : $79 / 99 = 0,79$

Ecart type : $\sqrt{0,197} = 0,445$

**DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE AVANT LES INJECTIONS DE
DIGITONOSIDE - LAPIN « G ».**

TABLEAU 40

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 4,89			P % = 112,36 f (t)	
s = 0,445			t = 2,24 (x — 4,89)	
l / s = 2,2472			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 4,89)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
6,50	1,61	3,6064	0,0006	0,06
6	1,11	2,4864	0,0184	2,06
5,50	0,61	1,3664	0,1582	17,77
5	0,11	0,2464	0,3876	43,55
4,89	0	0	0,3989	44,82

**ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DU LAPIN « F » AVANT LES INJECTIONS
DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.**

TABLEAU 41

NaCl g/l	Fréquence f	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
8	0			
7,5	1,3	+ 3	+ 3,9	11,7
7	8,0	+ 2	+ 16,0	32,0
6,5	15,4	+ 1	+ 15,4	15,4
6	24,6	0	0	0
5,5	30,8	— 1	— 30,8	30,8
5	12,3	— 2	— 24,6	49,2
4,5	4,6	— 3	— 13,8	41,4
4	0			
3,5	0			
3	1,5			
2,5	0			
2	0			
1,5	1,5			
Total ..	97		— 33,9	180,5

Résultats en données abrégées

Moyenne : $— 33,9 / 97 = — 0,34$

Terme C : $(33,9)^2 / 97 = 11,8$

Somme des carrés :

$180,5 — 11,8 \# 169$

Variance : $169 / 96 = 1,7$

Résultats en données originales

Moyenne :

$6 — (0,34 \times 0,5) = 5,83$

Variance : $1,7 \times (0,5)^2 = 0,42$

Ecart type : $\sqrt{0,42} = 0,648$

**DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE AVANT LES INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE - LAPIN « F ».**

TABLEAU 42

<i>Données expérimentales</i>		<i>Equation de la courbe</i>		
m = 5,83		P % = 77,16 f (t)		
s = 0,648		t = 1,54 (x — 5,83)		
1/s = 1,5432		f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-t^2}$		
NaCl g/l x	(x — 5,83)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
7,50	1,67	2,57	0,0147	1,13
7	1,17	1,80	0,0790	6,09
6,50	0,67	1,03	0,2347	18,10
6	0,17	0,26	0,3857	29,76
5,83	0	0	0,3989	30,78

**ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DU LAPIN « H » AVANT LES INJECTIONS
DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.**

TABLEAU 43

NaCl g/l	Fréquence	Ecart $\bar{x}$ sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x^2
7	3,0	+ 3	+ 9,0	27,0
6,5	20,0	+ 2	+ 40,2	80,4
6	23,3	+ 1	+ 23,3	23,3
5,5	27,6	0	0	0
5	18,5	— 1	— 18,5	18,5
4,5	6,0	— 2	— 12,0	24,0
4	0			
3,5	0			
3	0			
2,5	0			
2	1,6			
Total ..	98,4 + 1,6	(deuxième population)	+ 42,0	173,2

Résultats en données abrégées

Moyenne : $42 / 98,4 = 0,426$

Terme C : $(42)^2 / 98,4 = 17,92$

Somme des carrés :

$173,2 - 17,92 = 156$

Variance : $156 / 97,4 = 1,60$

Résultats en données originales

Moyenne :

$5,5 + (0,42 \times 0,5) = 5,71$

Variance : $1,60 \times (0,5)^2 = 0,40$

Ecart type : $\sqrt{0,40} = 0,625$

**DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE AVANT LES INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE - LAPIN « H ».**

TABLEAU 44

<i>Données expérimentales</i>		<i>Equation de la courbe</i>		
m = 5,71		P % = 80 f (t)		
s = 0,625		t = 1,60 (x — 5,71)		
1/s = 1,600		f (t) = $1 \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
NaCl g/l x	(x — 5,71)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
7,50	1,79	2,86	0,0067	0,53
7	1,29	2,06	0,0478	3,82
6,50	0,79	1,26	0,1804	14,43
6	0,29	0,46	0,3589	28,71
5,71	0	0	0,3989	31,91

**ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DU LAPIN « J » AVANT LES INJECTIONS
DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.**

TABLEAU 45

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
6,5	0			
6	3	+ 3	+ 9	27
5,5	6	+ 2	+ 12	24
5	57	+ 1	+ 57	57
4,5	19	0	0	0
4	8	— 1	— 8	8
3,5	7	— 2	— 14	28
Total ..	100		+ 56	144

Résultats en données abrégées

Moyenne : $56 / 100 = 0,56$

Terme C : $(56)^2 / 100 = 31,36$

Somme des carrés :

$144 - 31,36 = 113$

Variance : $113 / 99 = 1,13$

Résultats en données originales

Moyenne :

$4,50 + (0,56 \times 0,5) = 4,78$

Variance : $1,13 \times (0,5)^2 = 0,28$

Ecart type : $\sqrt{0,28} = 0,53$

**DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE AVANT LES INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE - LAPIN « J ».**

TABLEAU 46

<i>Données expérimentales</i>		<i>Equation de la courbe</i>		
m = 4,78		P % = 94,34 f (t)		
s = 0,53		t = 1,88 (x — 4,78)		
1/s = 1,8868		f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
NaCl g/l x	(x — 4,78)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
6,50	1,72	3,2336	0,0022	0,20
6	1,22	2,2936	0,0290	2,73
5,50	0,72	1,3536	0,1604	15,13
5	0,22	0,4136	0,3668	34,60
4,78	0	0	0,3989	37,63

*ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DE LAPINS NORMAUX.*

TABLEAU 48

NaCl g/l	Fréquence f.	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7,5	0,16	+ 5	+ 0,80	4,00
7	2,01	+ 4	+ 8,04	32,16
6,5	7,24	+ 3	+ 21,72	65,16
6	15,34	+ 2	+ 30,68	61,36
5,5	24,69	+ 1	+ 24,69	24,69
5	33,64	0	0	0
4,5	11,81	— 1	— 11,81	11,81
4	2,74	— 2	— 5,48	10,96
3,5	1,59	— 3	— 4,77	14,31
3	0,60	— 4	— 2,40	9,60
Total ..	99,82		+ 61,47	234,05

Résultats en données abrégées

Moyenne : $61,47 / 99,8 = + 0,616$

Terme C : $(61,47)^2 / 99,8 = 37,86$

Somme des carrés :

$$234,05 - 37,86 \neq 196$$

Variance : $196 / 98,8 = 1,98$

Résultats en données originales

Moyenne :

$$5 + (0,616 \times 0,5) = 5,30$$

Variance : $1,98 \times (0,5)^2 = 0,495$

Ecart type : $\sqrt{0,495} = 0,703$

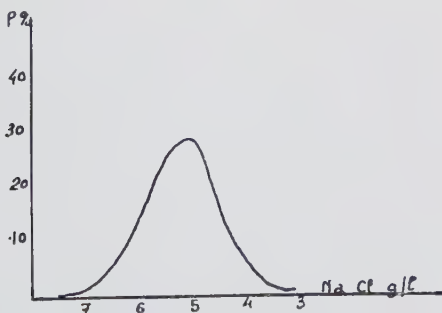


FIG. 27

Courbe théorique de résistance osmotique normale

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE - LAPINS NORMAUX.

TABEAU 49

<i>Données expérimentales</i>		<i>Equation de la courbe</i>		
m = 5,30		P % = 71,12 f (t)		
s = 0,703		t = 1,42 (x — 5,30) t²		
1 / s = 1,4225		f (t) = 1 / $\sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$ 2		
NaCl g/l x	(x — 5,30)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
7	1,70	2,414	0,0216	1,5
6,50	1,20	1,704	0,0933	6,6
6	0,70	0,994	0,2432	17,3
5,50	0,20	0,284	0,3836	27,2
5,30	0	0	0,3989	28,3

$$\text{Coefficient de variation B} = \frac{100 \times 0,703}{5,3} \quad \#13 \text{ p. 100}$$

Conclusions :

La courbe normale que nous établissons est un moyen de comparaison qui nous permet d'apprécier la tendance (prise au sens statistique du terme) de la population érythrocytaire. Nous admettons que la résistance globulaire moyenne normale a une valeur comprise entre 4,85 et 5,85 g/l. Nous admettons aussi que le coefficient de variation normal est inférieur à 13 p. 100.

En général l'hémolyse commence pour des concentrations en chlorure de sodium de 7,0 g/l : elle est totale pour des concentrations de 3 g/l et 85 p. 100 des hématies sont hémolysées pour des concentrations comprises entre 4,50 et 6 g/l.

Si nous calculons les moyennes des paramètres qui définissent les courbes de résistance globulaire de chaque animal, nous trouvons que la résistance moyenne est de 5,36 g/l, que l'écart type moyen est de 0,55 et que le coefficient de variation « B » a pour valeur 10,26 p. 100.

HEMATOCRITE

Le taux d'hématocrite est le même pour les auteurs américains précédemment cités :

WINTROBE (151)	39,8 p. 100
ALTMAN (3)	39,8 p. 100

Résultats personnels :

N° des lapins	Hématocrite
1	39,0
2	35,0
3	47,0
4	39,5
5	34,8
6	36,8
7	44,5
8	44,0
9	36,0
10	37,5
11	40,4
12	43,3
Total	477,8
Moyenne	39,8

L'hématocrite d'un lapin normal oscille autour de la valeur moyenne de 39,8 p. 100.

Les valeurs extrêmes trouvées sont de 34,8 p. 100 et 44,5 p. 100.

HEMOGLOBINE

Nous l'avons dosée à l'aide de l'électrocolorimètre de JOBIN et YVON. Nous avons trouvé que la quantité d'hémoglobine était de 130 g. par litre de sang. J. JOLLY (83) et WINTROBE (151) l'évaluent aussi à 130 g/l ; CASEY (*) à 119 g/l ; ALTMAN (3) à 128 g/l ; CHEYMOL et HENRY (40) à 112 g/l.

Voici nos résultats expérimentaux par ordre croissant :

1	animal	à	112	g/l
1	—		120	—
2	—		123	—
1	—		127	—
2	—		127,5	—
1	-		131	—
1	—		135	—
1	—		139	—
1	—		146	—
1	—		150	—

Moyenne : 130 g/l

(*) Cités par Wintrobe (151).

VALEUR GLOBULAIRE

Les variations périodiques de l'hémoglobine suivent, chez un individu normal, les variations du nombre des hématies. Pour un même animal la valeur globulaire est donc constante. Dans un groupe de dix animaux nous avons trouvé des valeurs comprises entre 0,83 et 1,18. La valeur globulaire moyenne est de 1. Nous admettrons qu'il y a hypochromie pour une valeur inférieure à 0,83 et hyperchromie pour une valeur supérieure à 1,18.

CHAPITRE II

ETUDE HEMATOLOGIQUE DU LAPIN NORMAL

(suite)

DIAMETRE ERYTHROCYTAIRE

Le chiffre mesurant le diamètre des hématies de lapin a été publié par différents auteurs, dont voici les résultats :

Auteurs	Diamètre en microns
J. JOLLY (83)	6,5
DUMAS (53)	6
SCARBOROUGH (*)	6,7
ALTMAN (3)	7
LAVERGNE (cité par CHEYMOL, 40) ..	7
Valeur personnelle	6,47

Nous avons pris la mensuration de huit cents hématies, provenant de huit animaux différents. Nous rapportons, dans des tableaux séparés, les données obtenues pour chaque lapin ; en partant des résultats expérimentaux de la courbe de Price-Jones, nous déduisons la courbe théorique par le calcul statistique.

Courbe diamétrale normale

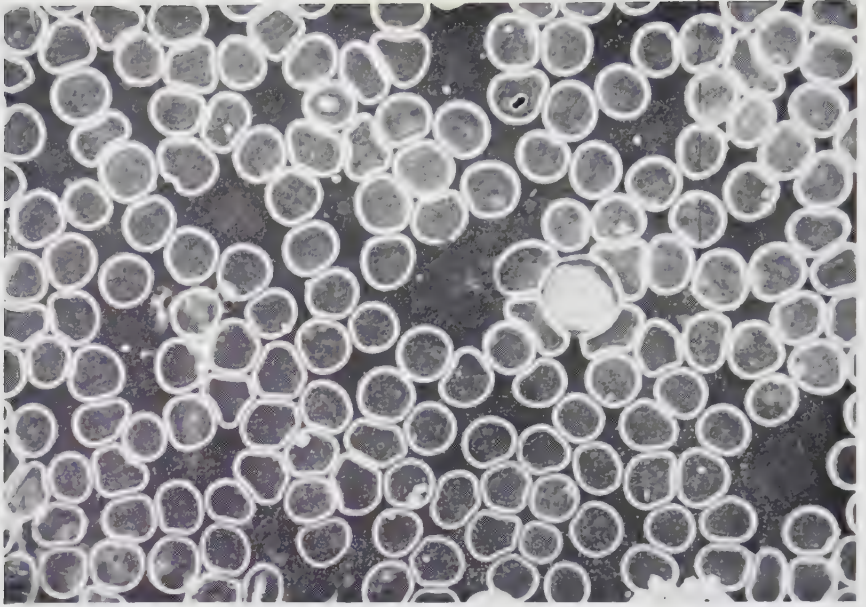
Comme précédemment dans l'étude de la résistance globulaire à l'hypotomie, nous avons déduit une courbe de distribution que nous appelons courbe diamétrale normale. Les données qui permettent de tracer cette courbe sont calculées dans les derniers tableaux.

N. B. Pour les tableaux de mesure des surfaces des hématies :

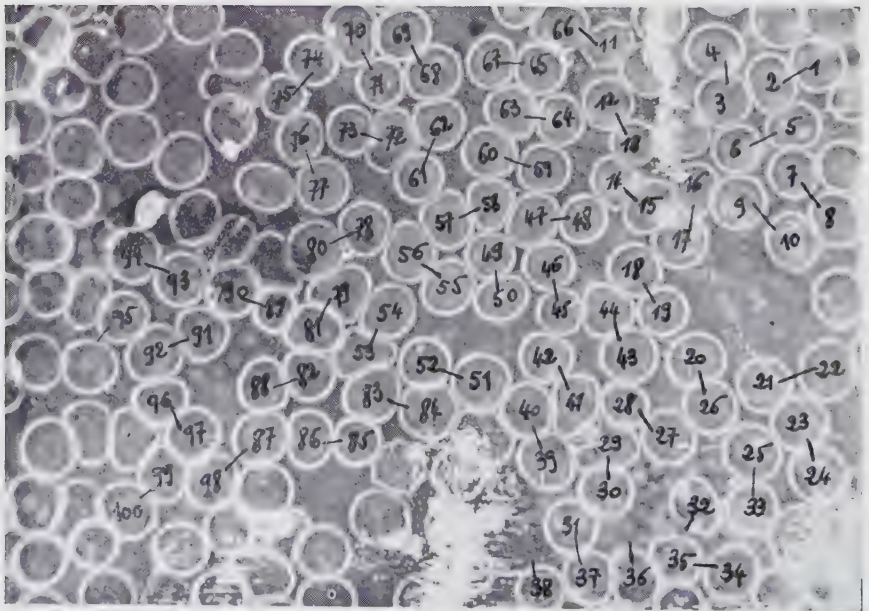
1^{re} colonne : numéro de l'hématie.

2^e colonne : surface lue en mm² en parcourant deux fois le tour de l'hématie.

(*) Cités par Wintrobe (151).



! lymphocyte



LAPIN B

**MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « B »
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTRÉE DE
DIGITONOSIDE.**

1^{re} colonne : numéro de l'hématie.

2^e colonne : surface lue en mm².

TABLEAU 50

1	120	26	118	51	134	76	98
	114		123		105		122
	128		83		104		115
	129		142		128		122
5	102	30	110	55	118	80	139
	97		114		126		113
	105		114		115		105
	118		110		95		125
	127		119		111		134
10	127	35	102	60	120	85	87
	76		110		94		111
	93		107		111		120
	81		84		111		100
	91		128		100		67
15	106	40	117	65	111	90	115
	93		115		120		113
	130		117		107		130
	113		127		128		113
	103		116		120		115
20	127	45	82	70	137	95	101
	124		95		95		96
	137		109		126		117
	123		95		99		116
	126		81		102		132
25	131	50	100	75	79	100	133

Surface totale mesurée : 11 174 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 55,87 mm², ce qui correspond à un diamètre de 6,4 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
20,0 à 28,0	3	0
28,0 à 37,4	3,5	0
37,4 à 48,0	4	0
48,0 à 60,0	4,5	0
60,0 à 73,0	5	1
73,0 à 87,6	5,5	8
87,6 à 103,6	6	20
103,6 à 120,8	6,5	42
120,8 à 139,4	7	28
139,4 à 159,4	7,5	1
159,4 à 180,6	8	0
180,6 à 203,2	8,5	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU
LAPIN « B » AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABEAU 51

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
4,5	0			
5	1	— 3	— 3	9
5,5	8	— 2	— 16	32
6	20	— 1	— 20	20
6,5	42	0	0	0
7	28	+ 1	+ 28	28
7,5	1	+ 2	+ 2	4
8	0			
Total . .	100		— 9	93

Résultats en données abrégées

Moyenne : $— 9 / 100 = — 0,09$

Terme C : $(9)^2 / 100 = 0,81$

Somme des carrés :

93 — 0,81 # 92

Variance : $92 / 99 = 0,92$

Résultats en données originales

Moyenne :

6,50 — $(0,09 \times 0,5) = 6,45$

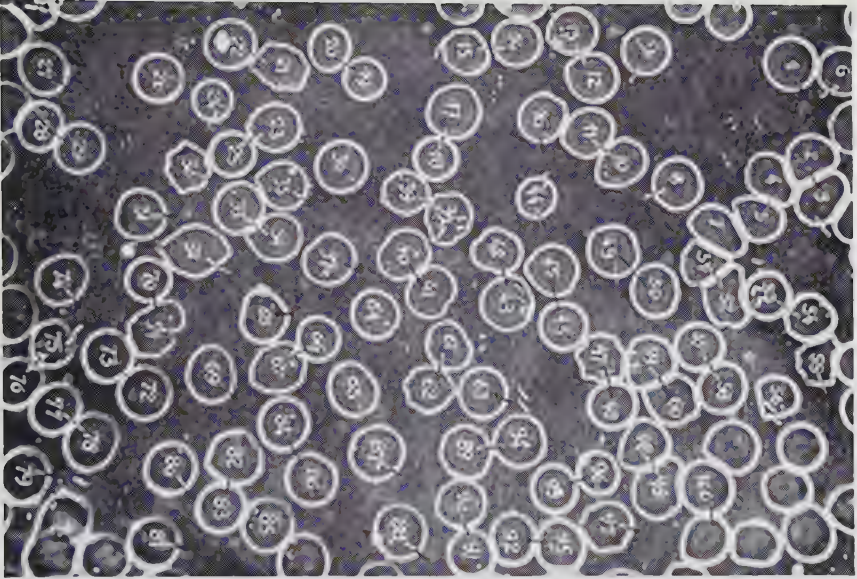
Variance : $0,92 \times (0,5)^2 = 0,23$

Ecart type : $\sqrt{0,23} = 0,480$

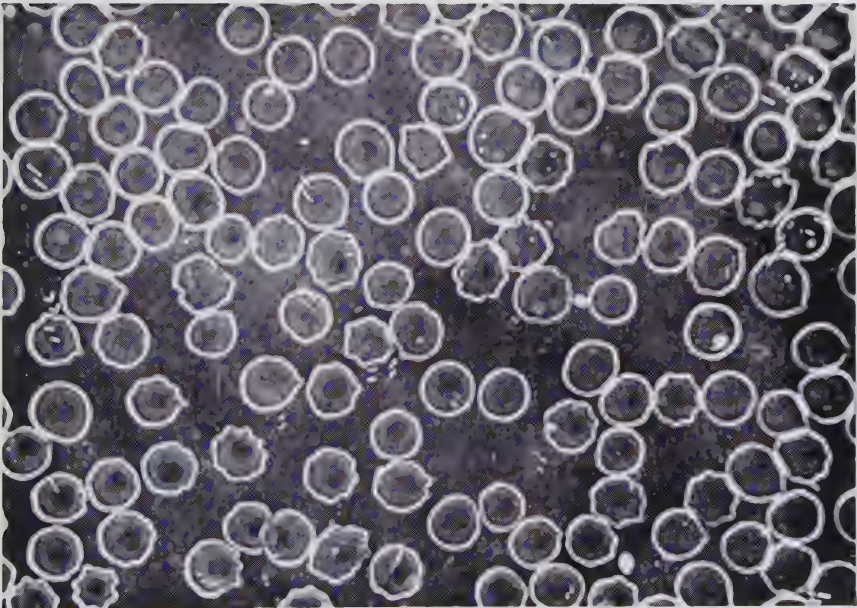
DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE - LAPIN « B ».

TABEAU 52

Données expérimentales			Equation de la courbe		
m = 6,45			P % = 104,16 f (t)		
s = 0,480			t = 2,08 (x — 6,45)		
1 / s = 2,0833			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,45)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé	
8,50	2,05	4,270	0	0	
8	1,55	3,229	0,0022	0,23	
7,50	1,05	2,187	0,0365	3,80	
7	0,55	1,145	0,2070	21,56	
6,50	0,05	0,104	0,3970	41,35	
6,45	0	0	0,3989		



LAPIN C



LAPIN C

MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « C »
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE.

TABLEAU 53

1	150	26	116	51	96	76	126
	121		128		124		117
	130		104		103		151
	127		121		110		141
5	108	20	99	55	89	80	130
	129		125		82		127
	130		166		117		143
	137		122		120		113
	117		125		133		134
10	126	35	123	60	126	85	135
	130		137		108		130
	133		134		109		151
	119		101		128		140
	118		128		119		148
15	107	40	131	65	128	90	119
	116		127		94		108
	150		112		145		117
	91		153		120		140
	86		78		136		128
20	89	45	134	70	94	95	89
	131		114		140		135
	126		118		141		132
	126		113		130		132
	78		146		127		152
25	100	50	130	75	95	100	150

Surface totale mesurée : 12 266 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 61,33 mm², ce qui correspond à un diamètre de 6,8 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
20,0 à 28,0	3	0
28,0 à 37,4	3,5	0
37,4 à 48,0	4	0
48,0 à 60,0	4,5	0
60,0 à 73,0	5	0
73,0 à 87,6	5,5	4
87,6 à 103,6	6	12
103,6 à 120,8	6,5	25
120,8 à 139,4	7	42
139,4 à 159,4	7,5	16
159,4 à 180,6	8	1
180,6 à 203,2	8,5	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU
LAPIN « C » AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 54

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
5	0			
5,5	4	— 3	— 12	36
6	12	— 2	— 24	48
6,5	25	— 1	— 25	25
7	42	0	0	0
7,5	16	+ 1	+ 16	16
8	1	+ 2	+ 2	4
8,5	0			
Total ..	100		— 43	129

Résultats en données abrégées

Résultats en données originales

Moyenne : $— 43 / 100 = — 0,43$

Moyenne :

Terme C : $(43)^2 / 100 = 18,49$

$7 — (0,43 \times 0,5) = 6,78$

Somme des carrés :

Variance : $1,11 \times (0,5)^2 = 0,277$

$129 — 18,49 = 111$

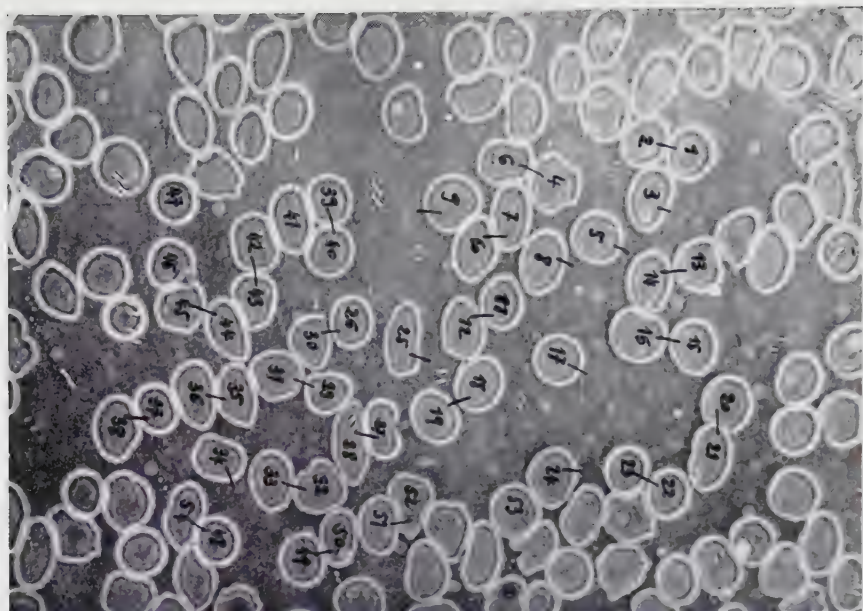
Variance : $111 / 99 = 1,11$

Ecart type : $\sqrt{0,277} = 0,526$

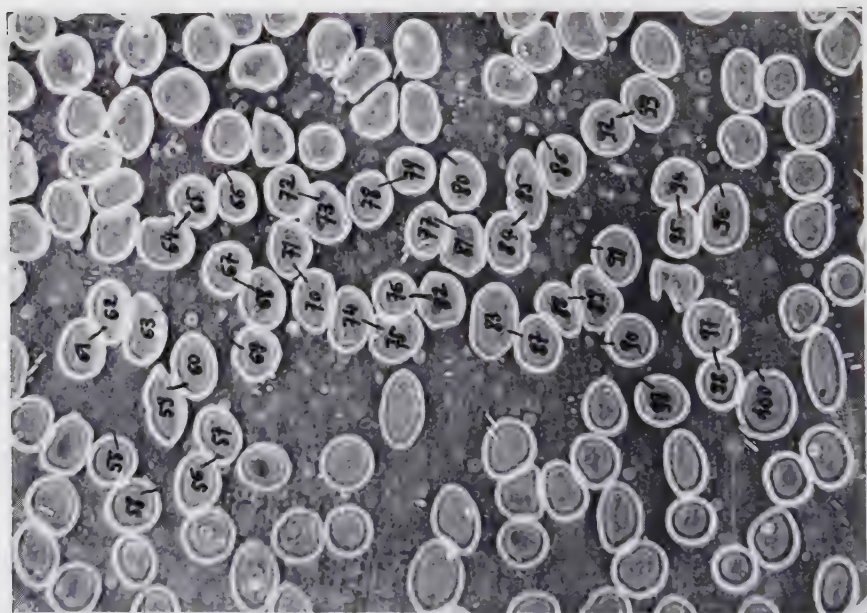
DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE - LAPIN « C ».

TABLEAU 55

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 6,78			P % = 95,05 f (t)	
s = 0,526			t = 1,90 (x — 6,78)	
1 / s = 1,90			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,78)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8,50	1,72	3,290	0,0018	0,17
8	1,22	2,318	0,0277	2,63
7,50	0,72	1,368	0,1582	15,03
7	0,22	0,418	0,3668	34,86
6,78	0	0	0,3989	37,91



ETUDE DES DIAMETRES ERYTHROCYTAIRES DU LAPIN D
AVANT TOUTE INJECTION (1 à 54 compris)



ETUDE DES DIAMETRES ERYTHROCYTAIRES DU LAPIN D
AVANT TOUTE INJECTION (55 à 100)

MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « D »
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE.

TABEAU 56

1	107	26	91	51	100	76	82
	96		82		101		95
	122		120		111		110
	129		79		102		94
5	115	30	88	55	105	80	117
	107		108		115		118
	111		112		113		119
	130		114		122		171
	138		99		133		85
10	115	35	104	60	130	85	126
	90		120		116		124
	114		84		110		114
	113		122		135		87
	121		97		140		118
15	108	40	105	65	102	90	107
	132		118		103		119
	109		122		102		123
	111		100		126		123
	110		146		110		104
20	119	45	103	70	118	95	85
	119		88		107		158
	89		87		100		133
	77		86		123		90
	118		100		122		115
25	112	50	89	75	118	100	189

Surface totale mesurée : 11 146 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 55,73 mm², correspondant à un diamètre de 6,48 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
48,0 à 60,0	4,5	0
60,0 à 73,0	5	0
73,0 à 87,6	5,5	10
87,6 à 103,6	6	22
103,6 à 120,8	6,5	43
120,8 à 139,4	7	20
139,4 à 159,4	7,5	3
159,4 à 180,6	8	1
180,6 à 203,2	8,5	1
203,2 à 227,0	9	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU
LAPIN « D » AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 57

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
5,5	10	— 2	— 20	40
6	22	— 1	— 22	22
6,5	43	0	0	0
7	20	+ 1	+ 20	20
7,5	33	+ 2	+ 6	12
8	1	+ 3	+ 3	9
8,5	1	+ 4	+ 4	16
Total ..	100		— 9	19

Résultats en données abrégées

Résultats en données originales

Moyenne : $— 9 / 100 = — 0,09$

Moyenne :

Terme C : $81 / 100 = 0,81$

$6,5 — (0,09 \times 0,5) = 6,46$

Somme des carrés :

Variance : $1,19 \times (0,5)^2 = 0,297$

$119 — 0,81 \times 100 = 118$

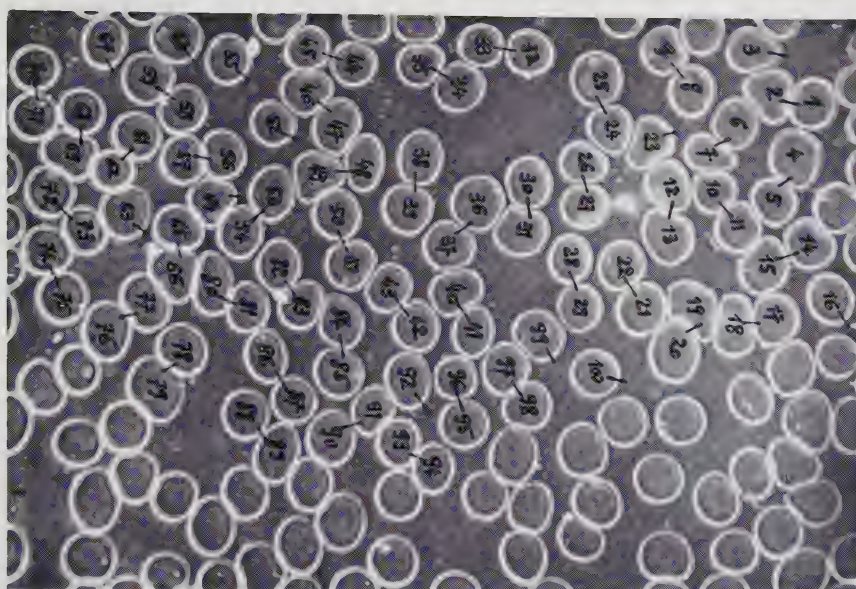
Variance : $118 / 99 = 1,19$

Ecart type : $\sqrt{0,297} = 0,545$

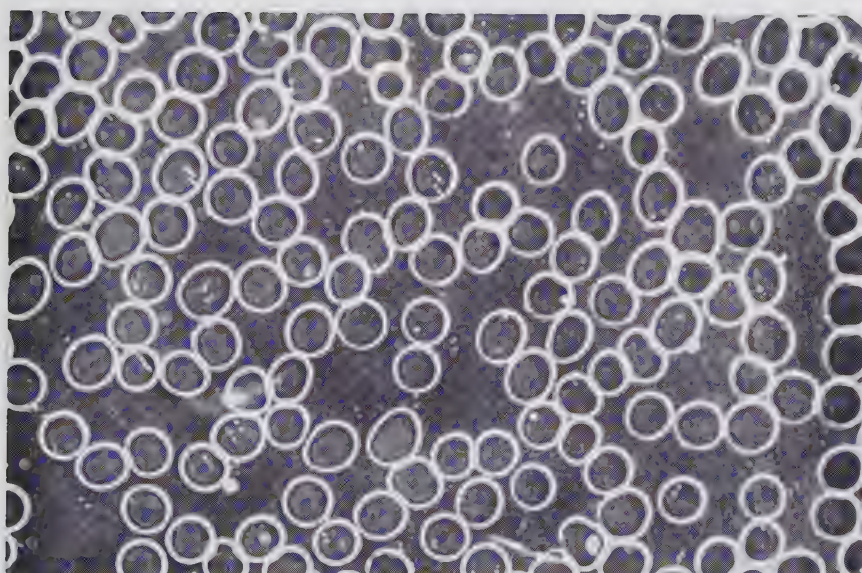
DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE - LAPIN « D ».

TABLEAU 58

Données expérimentales		Equation de la courbe		
m = 6,46		P % = 91,74 f (t)		
s = 0,545		t = 1,83 (x — 6,46)		
l/s = 1,8349		f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,46)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8	1,54	2,818	0,0076	0,69
7,50	1,04	1,903	0,0656	6,01
7	0,54	0,988	0,2460	22,57
6,50	0,04	0,073	0,3980	36,51
6,46	0	0	0,3989	36,60



LAPIN E



LAPIN E

MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « E »
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE.

TABEAU 59

1	111	26	96	51	120	76	140
	118		102		98		132
	115		97		117		125
	150		101		111		176
5	120	30	112	55	109	80	119
	114		130		103		104
	88		98		100		108
	110		90		107		100
10	101	35	120	60	124	85	117
	85		100		127		123
	104		147		99		108
	112		124		70		105
15	141	40	122	65	130	90	117
	113		123		99		133
	137		115		100		131
	108		100		122		95
20	120	45	114	70	106	95	125
	119		107		97		99
	131		97		117		98
	150		91		98		117
25	130	50	112	75	108	100	89
	111		128		116		116
	112		105		100		110
	101		120		113		128
	138		113		123		115

Surface totale mesurée : 11 247 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 56,23 mm², ce qui correspond à un diamètre de 6,5 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
48,0 à 60,0	4,5	0
60,0 à 73,0	5	1
73,0 à 87,6	5,5	1
87,6 à 103,6	6	27
103,6 à 120,8	6,5	44
120,8 à 139,4	7	21
139,4 à 159,4	7,5	5
159,4 à 180,6	8	1
180,6 à 203,2	8,5	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU LAPIN « E » AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 60

Diametres mesurés en microns	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
4,5	0			
5	1	— 3	— 3	9
5,5	1	— 2	— 2	4
6	27	— 1	— 27	27
6,5	44	0	0	0
7	21	+ 1	+ 21	21
7,5	5	+ 2	+ 10	20
8	1	+ 3	+ 3	9
8,5	0			
Total ..	100		+ 2	90

Résultats en données abrégées

Moyenne : $2 / 100 = 0,02$

Terme C : $(2)^2 / 100 = 0,04$

Somme des carrés :

90 — 0,04 # 90

Variance : $90 / 99 = 0,9$

Résultats en données originales

Moyenne :

$6,5 + (0,02 \times 0,5) = 6,51$

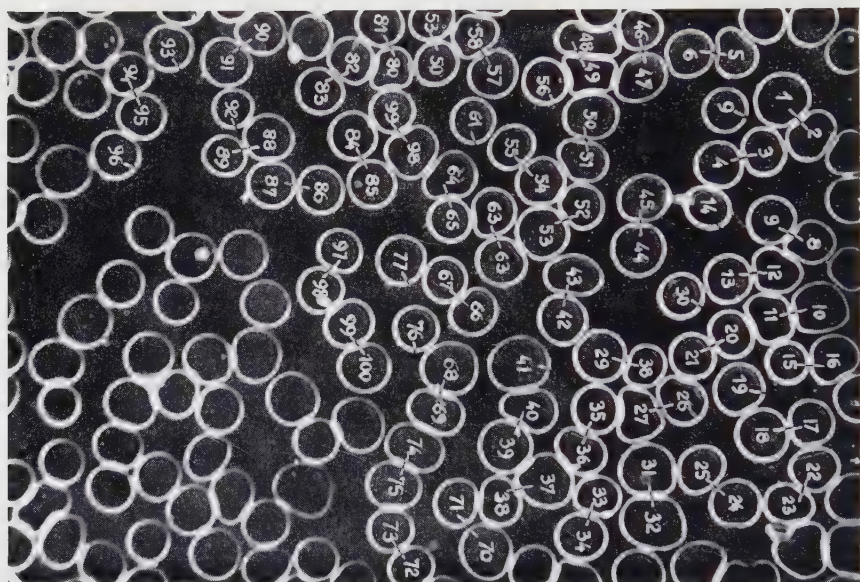
Variance : $0,9 \times (0,5)^2 = 0,225$

Ecart type : $\sqrt{0,225} = 0,475$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE - LAPIN « E ».

TABLEAU 61

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 6,51			P % = 105,26 f (t)	
s = 0,475			t = 2,10 (x — 6,51)	
1/s = 2,1053			$f(t) = 1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,51)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8,50	1,99	4,179	0,0001	0,01
8	1,49	3,129	0,0030	0,31
7,50	0,99	2,079	0,0460	4,84
7	0,49	1,029	0,2350	24,73
6,51	0	0	0,3989	41,98



LAPIN F

MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « F »
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE.

TABEAU 62

1	157	26	117	51	110	76	99
	120		124		97		121
	104		84		143		134
	116		139		116		95
5	105	30	118	55	99	80	85
	120		161		106		112
	105		191		122		103
	100		92		96		108
	116		120		97		114
10	150	35	110	60	95	85	115
	118		112		97		110
	113		152		113		112
	119		104		123		116
	94		146		126		85
15	85	40	114	65	94	90	104
	118		177		107		124
	105		120		98		75
	142		121		150		106
	134		149		119		97
20	103	45	128	70	142	95	106
	101		94		104		110
	111		133		91		94
	100		109		94		102
	125		100		133		113
25	112	50	132	75	127	100	129

Surface totale mesurée : 11 398 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 56,99 mm², ce qui correspond à un diamètre de 6,5 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
60,0 à 73,0	5	0
73,0 à 87,6	5,5	5
87,6 à 103,6	6	23
103,6 à 120,8	6,5	43
120,8 à 139,4	7	17
139,4 à 159,4	7,5	9
159,4 à 180,6	8	2
180,6 à 203,2	8,5	1
203,2 à 227,0	9	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU
LAPIN « F » AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABEAU 63

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
5	0			
5,5	5	— 2	— 10	20
6	23	— 1	— 23	23
6,5	43	0	0	0
7	17	+ 1	+ 17	17
7,5	9	+ 2	+ 18	36
8	2	+ 3	+ 5	15
8,5	1	+ 4	+ 4	16
Total ..	100		+ 11	127

Résultats en données abrégées

Moyenne : $11 / 100 = 0,11$

Terme C : $(11)^2 / 100 = 1,21$

Somme des carrés :

$127 - 1,21 \times 100 = 126$

Variance : $126 / 99 = 1,26$

Résultats en données originales

Moyenne :

$6,5 + (0,11 \times 0,5) = 6,55$

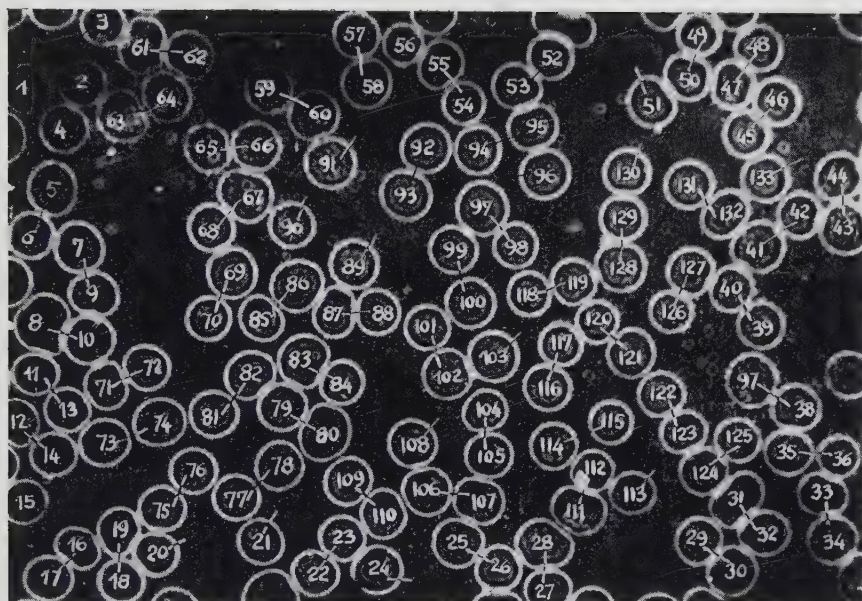
Variance : $1,26 \times (0,5)^2 = 0,31$

Ecart type : $\sqrt{0,31} = 0,557$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE - LAPIN « F ».

TABEAU 64

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 6,55			P % = 89,76 f (t)	
s = 0,557			t = 1,79 (x — 6,55)	
1/s = 1,7953			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,55)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8,50	1,95	3,49	0,0009	0,08
8	1,45	2,59	0,0139	1,24
7,50	0,95	1,70	0,0941	8,44
7	0,45	0,80	0,2897	26,00
6,55	0	0	0,3989	35,80



LAPIN G

**MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « G »
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE.**

TABLEAU 65

1	110	26	112	51	85	76	107
	100		123		91		109
	78		119		116		121
	135		107		96		81
5	105	30	120	55	91	80	96
	101		109		114		104
	93		99		94		85
	122		109		118		100
	85		130		114		78
10	125	35	95	60	123	85	83
	116		116		101		92
	95		121		104		84
	96		92		114		114
	89		95		129		98
15	95	40	114	65	98	90	89
	73		124		102		106
	98		98		115		87
	112		97		90		83
	90		100		117		98
20	107	45	109	70	117	95	122
	80		103		81		92
	100		138		100		98
	80		100		109		104
	110		110		110		105
25	118	50	127	75	108	100	107

Surface totale mesurée : 10 360 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 51,8 mm², ce qui correspond à un diamètre de 6,25 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
48,0 à 60,0	4,5	0
60,0 à 73,0	5	0
73,0 à 87,6	5,5	14
87,6 à 103,6	6	36
103,6 à 120,8	6,5	37
120,8 à 139,4	7	13
139,4 à 159,4	7,5	0
159,4 à 180,6	8	0
180,6 à 203,2	8,5	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU
LAPIN « G » AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 66

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
5	0			
5,5	14	— 2	— 28	56
6	36	— 1	— 36	36
6,5	37	0	0	0
7	13	+ 1	+ 13	13
7,5	0			
Total ..	100		— 51	105

Résultats en données abrégées

Moyenne : $— 51 / 100 = — 0,51$

Terme C : $(51)^2 / 100 = 26$

Somme des carrés :

$105 — 26 = 79$

Variance : $79 / 99 = 0,79$

Résultats en données originales

Moyenne :

$6,50 — (0,51 \times 0,5) = 6,25$

Variance : $0,79 \times (0,5)^2 = 0,1975$

Ecart type : $\sqrt{0,197} = 0,445$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE - LAPIN « G ».

TABLEAU 67

Données expérimentales		Equation de la courbe		
m = 6,25		P % = 112,36 f (t)		
s = 0,445		t = 2,24 (x — 6,25)		
1/s = 2,2472		$f(t) = 1 / \sqrt{2\pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,25)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8	1,75	3,92	0,0002	0,02
7,50	1,25	2,80	0,0079	0,88
7	0,75	1,68	0,0973	10,93
6,50	0,25	0,56	0,3411	38,32
6,25	0	0	0,3989	44,82



LAPIN H

**MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « H »
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE.**

TABLEAU 68

1	134	26	102	51	76	76	119
	99		125		101		114
	93		94		96		104
	80		91		97		107
5	97	30	97	55	119	80	120
	112		130		100		103
	120		121		88		110
	93		98		90		124
	103		83		83		107
10	108	35	126	60	108	85	114
	108		142		126		131
	98		120		119		93
	85		89		104		110
	110		112		97		88
15	93	40	87	65	104	90	99
	133		97		86		78
	109		76		118		100
	93		90		109		96
	100		107		84		132
20	99	45	88	70	113	95	93
	110		72		91		105
	151		93		95		99
	125		107		119		119
	123		115		101		125
25	104	50	107	75	116	100	101

Surface totale mesurée : 10 482 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 52,41 mm², ce qui correspond à un diamètre de 6,2 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
48,0 à 60,0	4,5	0
60,0 à 73,0	5	1
73,0 à 87,6	5,5	10
87,6 à 103,6	6	39
103,6 à 120,8	6,5	35
120,8 à 139,4	7	13
139,4 à 159,4	7,5	2
159,4 à 180,6	8	0
180,6 à 203,2	8,5	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU
LAPIN « H » AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 69

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f p. 100	Ecart x. sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
4,5	0			
5	1	— 2	— 2	4
5,5	10	— 1	— 10	10
6	39	0	0	0
6,5	35	+ 1	+ 35	35
7	13	+ 2	+ 26	52
7,5	2	+ 3	+ 6	18
8	0			
Total ..	100		+ 55	119

Résultats en données abrégées

Moyenne : $55 / 100 = 0,55$

Terme C : $(55)^2 / 100 = 30,25$

Somme des carrés :

119 — 30,25 = 89

Variance : $89 / 99 = 0,89$

Résultats en données originales

Moyenne :

$6 + (0,55 \times 0,5) = 6,23$

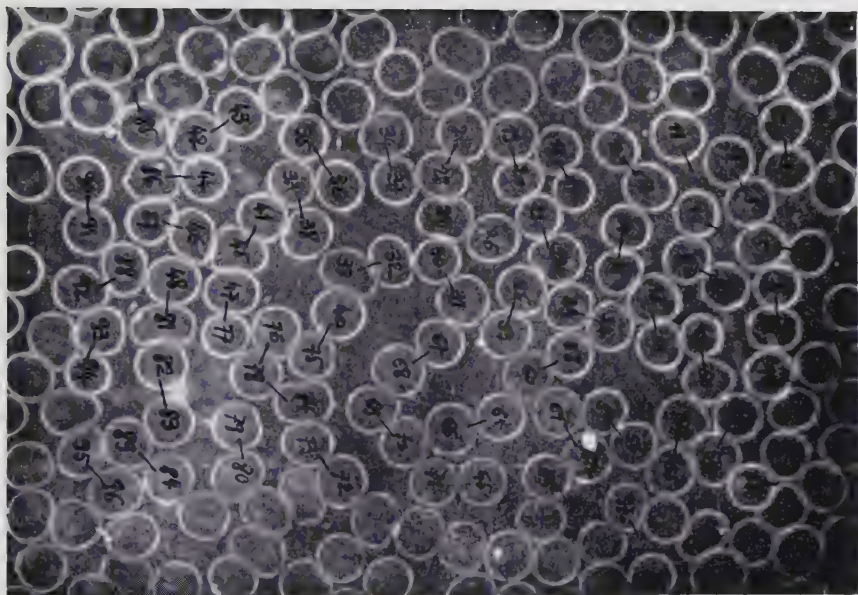
Variance : $0,89 \times (0,5)^2 = 0,22$

Ecart type : $\sqrt{0,22} = 0,469$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE - LAPIN « H ».

TABLEAU 70

Données expérimentales		Equation de la courbe		
m = 6,23		P % = 106,61 f (t)		
s = 0,469		t = 2,13 (x — 6,23)		
1/s = 2,1322		$f(t) = 1 / \sqrt{2\pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,23)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8	1,77	3,77	0,0003	0,03
7,5	1,27	2,70	0,0104	1,10
7	0,77	1,64	0,1040	11,08
6,5	0,27	0,57	0,3391	36,15
6,23	0	0	0,3989	42,52



LAPIN J

MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « J »
AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE
DIGITONOSIDE.

TABEAU 71

1	118	26	126	51	110	76	120
	124		130		130		103
	120		116		110		124
	130		123		128		119
5	111	30	105	55	120	80	117
	102		130		107		123
	100		111		99		125
	110		110		104		123
	103		123		117		128
10	103	35	107	60	111	85	132
	137		116		120		119
	93		107		114		97
	125		125		110		115
	110		127		115		121
15	104	40	134	65	115	90	118
	126		109		139		123
	78		122		115		120
	115		122		132		107
	120		96		113		87
20	98	45	121	70	114	95	115
	97		116		105		129
	135		126		128		96
	119		130		115		117
	117		85		125		127
25	121	50	107	75	102	100	100

Surface totale mesurée : 11 533 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 57,66 mm², ce qui correspond à un diamètre de 6,5 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
48,0 à 60,0	4,5	0
60,0 à 73,0	5	0
73,0 à 87,6	5,5	3
87,6 à 103,6	6	14
103,6 à 120,8	6,5	47
120,8 à 139,4	7	36
139,4 à 159,4	7,5	0
159,4 à 180,6	8	0
180,6 à 203,2	8,5	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU LAPIN « J » AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABEAU 72

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f p. 100	arbitraire en microns Ecart x sur moyenne	Produit f. x	Produit f. x ²
5	0			
5,5	3	— 2	— 6	12
6	14	— 1	— 14	14
6,5	47	0	0	0
7	36	+ 1	+ 36	36
7,5	0			
Total ..	100		+ 16	62

Résultats en données abrégées

Moyenne : $16 / 100 = 0,16$

Terme C : $(16)^2 / 100 = 2,56$

Somme des carrés :

62 — 2,56 = 60

Variance : $60 / 99 = 0,60$

Résultats en données originales

Moyenne :

$6,50 + (0,16 \times 0,5) = 6,58$

Variance : $0,60 \times (0,5)^2 = 0,15$

Ecart type : $\sqrt{0,15} = 0,387$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE AVANT LES INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE - LAPIN « J ».

TABEAU 73

<i>Données expérimentales</i>		<i>Equation de la courbe</i>		
m = 6,58		P % = 129,2 f (t)		
s = 0,387		t = 2,58 (x — 6,58)		
1 / s = 2,584		f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,58)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8,50	1,92	4,9536	0,0	0,0
8	1,42	3,6636	0,0005	0,06
7,50	0,92	2,3736	0,0241	3,11
7	0,42	1,0836	0,2227	28,77
6,58	0	0	0,3989	51,53

*TABLEAU ETABLI D'APRES LES DONNEES
DE HUIT LAPINS NORMAUX*

TABLEAU 74

Diamètres en microns	E f %	G f %	D f %	C f %	J f %	B f %	F f %	H f %	Total	Moyenne
4,5 ...	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 ...	1	0	0	0	0	1	0	1	3	0,37
5,5 ...	1	14	10	4	3	8	5	10	55	6,87
6 ...	27	36	22	12	14	20	23	39	193	24,12
6,5 ...	44	37	43	25	47	42	43	35	316	39,50
7 ...	21	13	20	42	36	28	17	13	190	23,80
7,5 ...	5	0	3	16	0	1	9	2	36	4,50
8 ...	1	0	1	1	0	0	2	0	5	0,60
8,5 ...	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0,20
9 ...	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*COURBE DIAMETRALE NORMALE ETABLIE
D'APRES LES DONNEES DE HUIT LAPINS NORMAUX*

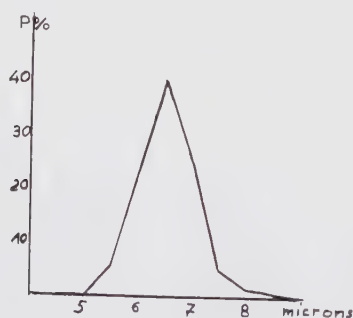


FIG. 27 bis

ETUDE STATISTIQUE

TABEAU 75

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
4,5	0			
5	0,37	— 3	— 1,11	3,33
5,5	6,87	— 2	— 13,74	27,48
6	24,12	— 1	— 24,12	24,12
6,5	39,50	0	0	0
7	23,80	+ 1	+ 23,80	23,80
7,5	4,50	+ 2	+ 9,00	18,00
8	0,60	+ 3	+ 1,80	5,40
8,5	0,20	+ 4	+ 0,80	3,20
Total	99,96		— 3,57	105,33

Résultats en données abrégées

Moyenne : $— 3,57/99,96 = — 0,03$

Terme C : $(3,75)^2 / 99,96 = 0,12$

Somme des carrés :

$105,33 — 0,12 \neq 105$

Variance : $105 / 98,96 = 1,06$

Résultats en données originales

Moyenne :

$6,50 — (0,03 \times 0,5) = 6,48$

Variance : $1,06 \times (0,5)^2 = 0,265$

Ecart type : $\sqrt{0,265} = 0,514$

MESURE DES SURFACES DES HEMATIES

TABEAU 76

(planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie)

Lapins	Surface moyenne de l'image d'une hématie en mm ²
B	55,87
C	61,33
D	55,73
E	56,99
G	51,80
H	52,41
J	57,66
Total	448,02
Moyenne	56,00 mm ² (diamètre correspondant : 6,5 microns)

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE

TABEAU 77

Données expérimentales		Equation de la courbe		
m = 6,48		P % = 97,27 f (t)		
s = 0,514		t = 1,94 (x — 6,48)		
1 / s = 1,9455		f (t) = 1 / $\sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,48)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS λ	P % calculé
8,00	1,52	2,948	0,0052	0,50
7,50	1,02	1,978	0,0570	5,54
7,00	0,52	1,008	0,2420	23,54
6,50	0,02	0,038	0,3989	38,80
6,48	0	0	0,3989	38,80

$$\text{Coefficient d'anisocytose } A = \frac{100 \times 0,51}{6,48} = 7,8 \text{ p. } 100$$

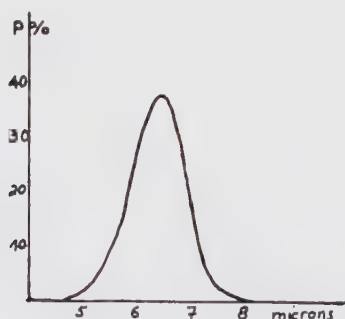


FIG. 28
Courbe diamétrale théorique

Conclusions :

Nous avons fait nos déterminations sur des hématies prises au hasard de l'étalement et par conséquent de formes variées.

Le diamètre moyen des hématies varie peu avec chaque animal ; sa valeur oscille chez les huit lapins que nous avons étudiés entre 6,23 et 6,78 microns ; la valeur moyenne est de 6,47 microns.

Parmi les huit cents hématies, nous avons seulement rencontré trois hématies de 5 microns, cinq hématies de 8 microns et deux de 8,5 microns. La grande majorité des érythrocytes a donc un diamètre compris entre 5,5 et 7 microns. Environ 40 p. 100 mesurent 6,5 microns et 50 p. 100 ont un diamètre de 6 et 7 microns, ce qui démontre l'homogénéité de la population vis-à-vis de ce paramètre.

Nous avons déduit la notion de macrocyte et de microcyte de l'étude de P. CHEVALLIER (39) sur l'homme. Voici résumé les caractéristiques de l'hématie de lapin, que nous avons obtenues :

Diamètre moyen	6,5 microns
Schizocytes	2,6 à 3,5 microns
Microcytes	3,5 à 5,5 microns
Macrocytes	7,5 à 9,0 microns
Mégalocytes	10,4 microns
Normocytes	5,5 à 7,5 microns

Nous avons calculé les moyennes des paramètres qui définissent les courbes diamétrales de chaque animal et en les comparant aux données de la courbe normale, nous admettons que le coefficient d'anisocytose est normal entre 7,10 et 7,80 p. 100 ; quand il dépasse cette dernière valeur, nous déterminons le type d'anémie en nous basant sur la valeur du diamètre moyen. Si le diamètre moyen est compris entre 6,22 et 6,79 microns il y a anisonormocytose ; au-dessous de 6,22 microns il y a anisomicrocytose et au-dessus de 6,79 microns il y a anisomacrocytose ou anisomégalocytose.

INDICE DE SPHÉRICITÉ

Nous rappelons que nous avons choisi le coefficient proposé par

$$\text{CAZAL : } I S = \frac{6 v}{\pi d^3}$$

en posant ($\pi = 3,14$
 (v = volume globulaire moyen
 (d = diamètre

TABLEAU 78

Lapins	numérateur 6 v	dénominateur : πd^3	I. S
E	407,7	866,3	0,47
G	415,7	766,6	0,54
D	506,7	827,0	0,61
C	442,4	978,6	0,45
J	430,6	894,6	0,48
B	519,6	842,6	0,61
F	475,7	882,4	0,53
H	495,5	759,3	0,65

Total : 4,34

Moyenne : 0,54

Conclusion :

L'indice de sphéricité est compris entre les valeurs extrêmes de 0,45 et 0,65 avec une valeur moyenne de 0,54. Au-dessous de 0,45 nous admettrons qu'il y a platycytose et qu'au-dessus de 0,65 il y a sphérocytose.

CHAPITRE III

ETUDE DE LA MOELLE OSSEUSE DU LAPIN NORMAL

L'étude de la moelle osseuse permet de préciser les renseignements fournis par l'étude du sang lui-même, contribuant ainsi à la connaissance des variations physiologiques de l'organisme capables de retentir sur le système hématopoïétique.

Technique de prélèvement

L'animal est autopsié aussitôt après le sacrifice, car la moelle osseuse s'altère rapidement. Comme STASNEY et HIGGINS (cités par S. DUVOLON, 54) le recommandent, les animaux sont tués par saignée.

Discussion

Nous avons pratiqué quelques numérations sur les éléments de la moelle osseuse (fémur) du lapin normal. Cette technique a fait l'objet d'un certain nombre de recherches chez l'homme dans de nombreux pays. Depuis les premiers travaux de LOSSEN en 1910, citons ceux de TUSCHINSKY et KOTLARENKO en 1930, de SEGERDAHL (1935), de GREIF (1938), de PITTS et PACKAM (1939), VOGEL et BASSEN (1939), OSGOOD et SEAMAN (1944), enfin de FRUHLING et ROGER (1948) et ASCHKENASY (1952). Chacune de ces tentatives a été critiquée et beaucoup d'hématologistes refusent toute signification à ces méthodes ou ne leur attribuent qu'une valeur douteuse.

En effet, les chiffres obtenus sont très contradictoires. Voici rappelées quelques données chez l'homme :

— citées par FRUHLING et ROGER (61)

LOSSEN	270 000 à 1 500 000	par mm ³ chez l'enfant
	600 000 à 1 500 000	par mm ³ chez l'adulte
VOGEL et BASSEN	50 000 à 1 000 000	chez l'enfant normal
	40 000 à 1 500 000	chez des enfants atteints d'infec- tions diverses

FRUHLING et ROGER ..	25 000 à 55 000	dans les moelles osseuses « banales »
	42 000 à 200 000	dans les anémies hypochromes
	84 000 à 238 000	dans les syndromes hémolytiques

— citées par

ASCHKENASY (5)	100 000 chez l'adulte
	330 000 dans une hyperplasie médullaire

— citées par JOURNOUD (85)

OSGOOD	25 000 à 55 000
PITTS et PACKHAM	28 000
BASERGA	250 000

— citées par

CAZAL (36)	1 330 000 dans la moelle rouge
------------------	--------------------------------

Les chiffres sont en eux-mêmes très éloquentes et JOURNOUD peut affirmer que le nombre de cellules par unité de volume est l'objet d'une incertitude regrettable.

Les critiques faites aux techniques de numération peuvent se diviser en deux groupes (61) :

1) le prélèvement obtenu par la ponction sternale est non pas constitué par de la moelle osseuse pure, mais par un mélange de sang et d'éléments médullaires variables d'une aspiration à l'autre et d'un auteur à l'autre. Par conséquent, les chiffres rapportés ne concernent pas la moelle osseuse pure et ne peuvent donc pas être comparés les uns aux autres.

2) la moelle osseuse est hétérogène. Les résultats obtenus donneraient une indication de l'état de l'organe médullaire en un point unique, sans préjuger de son état en d'autres territoires. FRUHLING et ROGER (61) pensent que c'est vrai chez l'adulte et surtout chez le vieillard normaux, mais qu'il n'en est pas de même dans la plupart des affections du mésenchyme sanguinoformateur. En effet, dans les anémies graves et les infections graves, par exemple, la moelle osseuse du squelette entier est remarquablement homogène, les modifications étant diffuses et totales. Notons cependant que l'hétérogénéité de la moelle se rencontre dans certaines aplasies et certaines ostéomyéloscléroses comme la splénomégalie myéloïde ; la moelle est alors désertique ou envahie par des faisceaux de tissu fibreux avec seulement quelques îlots actifs.

En définitive, FRUHLING et ROGER estiment que si l'on se place dans des conditions techniques identiques d'un cas à l'autre, on est en droit de comparer les différents chiffres obtenus entre eux et que ces méthodes de numération des éléments nucléés leur appa-

raissent comme un moyen d'investigation de mesure de la fonction médullaire.

Chez l'animal les résultats sont plus convaincants. Il est assez facile d'obtenir de la moelle pure non souillée de sang, si le lapin est suspendu un certain temps la tête en bas, avant de détacher le fémur. Nous évitons le second groupe de critiques en prenant la quantité relativement importante de 0,10 g de moelle osseuse et en opérant la ponction sensiblement au même endroit.

Toute valeur numérique obtenue constitue ainsi une sorte de test fidèle du travail global de la moelle. Sans cette numération, l'hématologiste se trouve, pour l'interprétation d'un myélogramme, dans la même situation qu'un clinicien qui examinerait un étalement de sang périphérique, dont il ignorerait le nombre des leucocytes par millimètre cube (FRUHLING et ROGER, 61).

Résultats expérimentaux

N° des lapins	Nombre d'éléments nucléés par mm ³
1	661 000
2	428 000
3	685 000
4	545 000
5	567 000
6	618 000
7	502 000
Total	4 006 000
Moyenne .	572 000

Essai de calcul du chiffre théorique

Nous avons essayé de déterminer théoriquement le nombre des éléments nucléés de la moelle osseuse en utilisant les modalités de calcul proposées par DEVIGNAT (48). Cet auteur déduisait la durée moyenne théorique de la vie d'une hématie humaine en supposant qu'il y a 200 000 éléments nucléés par millimètre cube de moelle dont 11,12 p. 100 sont des normoblastes. En prenant un raisonnement inverse nous calculons le nombre d'éléments nucléés, sachant que la durée de vie d'une hématie d'un lapin normal est de soixante jours (NEUBERGER, cité par SCHAPIRA et coll., 137).

DEVIGNAT admettait, comme base de son calcul, que la moelle osseuse active de l'homme adulte a un volume de 2 000 000 millimètres cubes. Estimant qu'un adulte pèse environ soixante kilogrammes, nous en avons déduit qu'un lapin de trois kilogrammes avait 100 000 millimètres cubes de moelle active. JOURNOUD (85) précise que le volume de moelle osseuse est comparable à celui du foie et nous savons qu'un foie de lapin de deux kilogrammes pèse environ soixante grammes (80), ce qui confirme la valeur du chiffre avancé de 100 000 millimètres cubes de moelle active pour trois kilogrammes d'animal.

Nous avons aussi admis qu'il y a 30 p. 100 de normoblastes, en rappelant que MALASSIS et coll. (103) estiment que le pourcentage de normoblastes chez le lapin adulte est de 28,8 + 1,4.

Nous résumons maintenant les éléments du calcul :

Durée de vie d'une hématie de lapin : 60 jours

Logarithme décimal de 60 ($\log_{10} 60$) = 1,206

Logarithme à base 2 ($\log_2 60$) = $1,206/0,301 = 4,066$

Sang normal de lapin :

Erythrocytes : 5 000 000 par mm^3

Volume sanguin : 235 000 mm^3 , déduit du volume sanguin de l'homme adulte

Total des érythrocytes dans l'organisme :

$5\,000\,000 \times 235\,000 = 1\,175\,000\,000\,000$

dont le $\log_{10} = 12,070$

et $\log_2 = 12,070 / 0,301 = 40,099$

Différence des logarithmes à base 2 :

$40,099 - 4,066 = 36,033$

En admettant, comme DEVIGNAT, qu'il y ait deux mitoses pour que le normoblaste devienne non proliférant, nous retrancherons 2 du logarithme trouvé :

$36,033 - 2 = 34,033$

dont le logarithme décimal est : $34,033 \times 0,301 = 10,243$

ce qui correspond, après conversion du logarithme, à un total de 17 500 000 000 éléments nucléés de la moelle.

Comme nous avons admis 100 000 millimètres cubes de moelle active et 30 p. 100 de normoblastes, nous pouvons calculer x, le nombre d'éléments nucléés par millimètre cube :

$$\frac{100\,000 \times x \times 30}{100} = 17\,500\,000\,000$$

$$\text{d'où : } x = \frac{17\,500\,000 \times 100}{10\,000 \times 30}$$

Résultat : $x = 583\,000$ éléments nucléés par millimètre cube de moelle active.

Les deux chiffres, théorique et expérimental, que nous avons trouvés sont comparables à ceux publiés par d'autres auteurs. MALASSIS et Coll. (103) ont calculé que le nombre total des cellules nucléées pour six à huit grammes de moelle est de :

$$2,83 \pm 0,33 \times 10^9$$

ce qui correspond, d'après nos déductions, à un nombre voisin de 500 000 éléments par millimètre cube. Nous expliquons ce résultat

plus faible par l'emploi d'une technique différente ; ces auteurs passent deux fois par compression, à travers trois épaisseurs de gaze molle, la moelle des humérus, fémurs et tibias pour éliminer les graisses et ils conservent toute la moelle en négligeant seulement l'extrémité inférieure de la diaphyse fémorale presque exclusivement grasseuse.

Conclusion

Le nombre d'éléments nucléés de la moelle active peut être considéré comme un test fidèle du travail global de la moelle osseuse.

Par l'emploi d'une technique standardisée, il est possible de comparer les chiffres obtenus, compte tenu du fait qu'on peut prélever, à l'autopsie de l'animal, de la moelle non souillée de sang.

Dans ces conditions on peut estimer que le chiffre moyen d'éléments nucléés par millimètre cube de moelle active est de 570 000. Nous avons aussi précisé au cours de cette étude que les normoblastes représentent environ 30 p. 100 des éléments nucléés et nous estimons que 28 p. 100 des normoblastes sont des sidéroblastes d'après les résultats expérimentaux que voici :

Lapins	Sidéroblastes
	x p. 100
T ₁	25
T ₂	27
T ₃	25
T ₄	33
T ₅	25
T ₆	35
Total	170
Moyenne ...	28 p. 100

Les normoblastes représentent donc un total de 160 000 par mm³ et les sidéroblastes sont au nombre de 45 000 par mm³.

CHAPITRE IV

PREMIERE OBSERVATION

Introduction

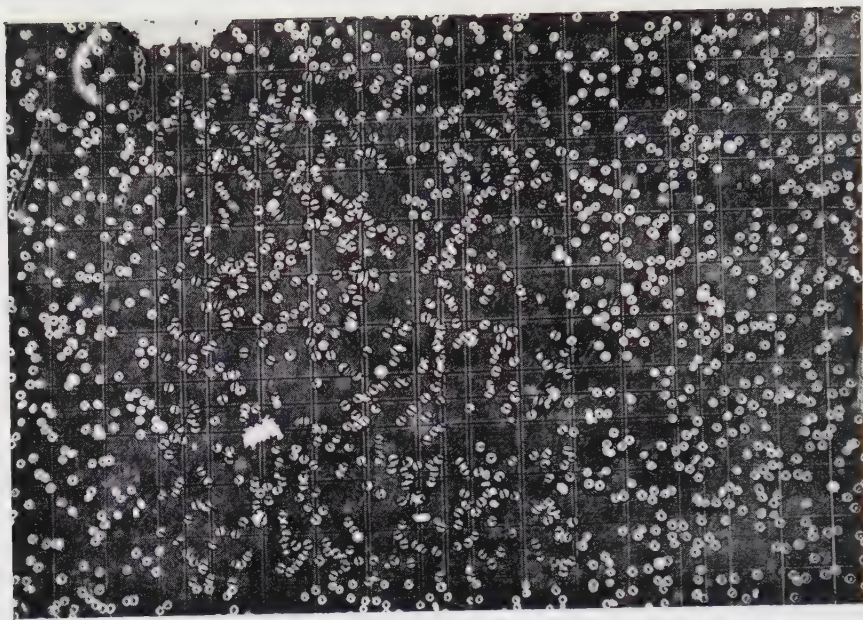
Un certain nombre d'animaux nous ont permis d'établir les moyennes que nous avons publiées dans le chapitre précédent. Les résultats expérimentaux qui vont suivre correspondent à ceux obtenus chez des animaux qui reçoivent des injections intraveineuses de digitonoside.

Les injections de ce toxique introduisent seulement deux millilitres de solution titrée. Etant donné la faible quantité injectée, nous n'avons pas jugé utile d'introduire parallèlement à d'autres sujets des solutions de sérum isotonique de chlorure de sodium. Chaque animal est à lui-même son témoin, technique déjà employée par d'autres auteurs (9 bis et 64). Ce raisonnement nous a paru justifié du fait de l'action irritante du digitonoside sur l'état des vaisseaux, provoquant des modifications qui nous ont paru trop importantes en comparaison de celles qui pouvaient provenir de l'introduction d'un peu de solution isotonique.

Les variations hématologiques que nous avons enregistrées au cours de notre expérimentation sont en effet la résultante de trois facteurs :

- action locale du digitonoside sur les vaisseaux,
- action déterminée par l'introduction de deux millilitres de sérum isotonique de chlorure de sodium,
- action du digitonoside sur les éléments sanguins et sur les organes hématopoïétiques.

Il ne nous paraît pas possible de déterminer avec des animaux témoins, l'action locale du digitonoside sur les vaisseaux. Comme l'introduction du sérum isotonique nous semble avoir une influence bien faible en comparaison de la première cause de variation, nous rapprocherons les résultats obtenus après injections à ceux qui ont été déterminés au début des expériences.



NUMERATION DE GLOBULES ROUGES

Décompte dans une cellule hématimétrique de Thoma

— Cellules dénombrées sur deux microphotos : 1163

— Résultat : 5 815 000/mm³ (lapin A en cours d'injections)

Première observation : lapin A

L'animal est de constitution normale ; il est issu d'un géant des Flandres et d'un blanc de Vendée, comme la plupart de ceux qui seront employés ultérieurement. De poils blancs, son réseau veineux est très visible.

C'est avec ce premier animal que nous avons mis au point les techniques d'étude qui ont été utilisées, à l'exclusion des mesures des diamètres et des résistances globulaires.

Au cours de cette première observation nous avons en effet essayé de mesurer les diamètres érythrocytaires par différentes méthodes, mais nous n'étions pas arrivés à des résultats concluants. Ce n'est que plus tard que nous avons définitivement mis au point la méthode de planimétrie décrite page 106.

Nos résultats exprimant les résistances globulaires à l'hypotonie étaient aussi incomplets ; nous avons négligé le faible pourcentage d'hémolyse obtenu dans les premiers et derniers tubes de la réaction. Dans ces conditions, il n'était pas possible d'établir la courbe de distribution des hématies suivant leur résistance osmotique, comme nous l'avons fait par la suite.

Nous négligerons aussi certaines données qui ne peuvent approcher l'exactitude des résultats que nous déterminerons par la suite.

Notre but essentiel a été de suivre la diminution du nombre des hématies, provoquée par le digitonoside, en fonction du temps. Nous avons constaté la complexité du phénomène ; aussi croyons-nous

nécessaire de faire suivre cette première étude d'un chapitre consacré à l'évolution de l'intoxication au cours de toute notre expérimentation (chapitre 5).

Pour essayer d'interpréter le sens des courbes décrites, nous envisagerons dans le chapitre suivant (chapitre 6), l'étude de la régénération sanguine en nous basant sur les publications les plus récentes.

L'examen hématologique révèle :

Hématies : 6 855 000 par mm³ ; Hématocrite : 47 p. 100 ;

Hémoglobine : 146 g/l (112 p. 100) ;

Valeur globulaire relative : 0,83 ;

Valeur globulaire absolue : 21,2 ;

Leucocytes : 11 730.

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles 28,0

Polynucléaires éosinophiles 1,0

Polynucléaires basophiles 4,0

Lymphocytes 62,5

Monocytes 4,5

Les mensurations globulaires :

Volume globulaire moyen : 68,6 micron-cubes

Concentration globulaire moyenne : 31,0 p. 100

En possession de tous ces examens, nous considérons que l'animal est normal et qu'il est possible de commencer les injections de solution concentrée de digitonoside.

Pour suivre l'anémie de ce premier animal, nous effectuons un certain nombre d'examens que nous consignons dans le tableau suivant :

TABLEAU 79

Dates	N ^o d'ordre de l'inject.	Hématies Nombre par mm ³	Hémoglob. g/l	Hématocrite p. 100	Leucocytes Nombre par mm ³
5 Nov.	—	6 855 000	146	47,0	11 730
7 Nov.	1 ^{re}	—	—	—	—
9 Nov.	—	6 640 000	—	—	—
10 Nov.	2 ^{me}	—	—	—	—
12 Nov.	—	5 755 000	—	—	—
13 Nov.	3 ^{me}	—	—	—	—
15 Nov.	—	5 800 000	—	—	—
16 Nov.	4 ^{me}	—	—	—	—
18 Nov.	—	6 500 000	—	—	—
19 Nov.	5 ^{me}	—	—	—	—
21 Nov.	—	5 815 000	—	—	8 680
22 Nov.	6 ^{me}	—	—	—	—
24 Nov.	—	5 325 000	127,5	—	10 260
25 Nov.	7 ^{me}	—	—	—	—
28 Nov.	—	5 110 000	—	—	—
29 Nov.	8 ^{me}	—	—	—	—
30 Nov.	—	4 550 000	—	—	—
1 Déc.	9 ^{me}	—	—	—	—
2 Déc.	—	5 005 000	109	30,8	8 630
5 Déc.	—	3 845.000	90	28	—
6 Déc.	—	4 115 000	—	—	—
7 Déc.	—	3 425 000	75	22	5 800

Mieux qu'une description, ce tableau montre comment nous avons opéré ; les examens sont pratiqués vingt-quatre heures après l'injection.

Après neuf injections intraveineuses, l'animal accuse une perte de 50 p. 100 de ses hématies. Nous notons qu'il mange très peu et que ses muqueuses sont à peine colorées. Nous décidons de le sacrifier.

Un examen hématologique nous révèle :

Hématies : 3 425 000	Valeur globulaire relative : 0,85
Hémoglobine : 75 g/l (57 p. 100)	Hématocrite : 22 p. 100
Valeur globulaire absolue : 21,7	Réticulocytes : 24 p. 100
Sidérocytes : 6,2 p. 100	
Leucocytes : 5 800	

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	61
Polynucléaires éosinophiles	0
Polynucléaires basophiles	1
Lymphocytes	30
Monocytes	8
dont 0,5 p. 100 d'érythrocytes avec corps de Jolly.	

Les mensurations globulaires :

Volume globulaire moyen : 64,32 micron-cubes
Concentration globulaire moyenne : 34,0 p. 100

Myélogramme :

Myéloblastes	4,0
Promyélocytes	3,0
Myélocytes neutrophiles	18,0
Myélocytes éosinophiles	2,0
Métamyélocytes neutrophiles	29,0
Polynucléaires neutrophiles	4,0
Polynucléaires éosinophiles	0,0
Lymphocytes	5,0
Monocytes	0,0
Proérythroblastes et Erythroblastes basoph.	3,0
Erythroblastes polychromatophiles + ortho-	
chromatiques	32,0

Numération des éléments de la moelle : 670 000 par mm³

Autres examens :

Cholestérol total : 1,13 g/l
Urée sanguine : 0,85 g/l
Résistance globulaire à l'hypotonie : valeur dominante 5 g/l
Fer sérique : 170 microgrammes pour 100 ml de sérum.

DISCUSSION DES PRINCIPAUX FAITS OBSERVES

La lignée blanche :

Les leucocytes subissent des variations qui ne sont pas nécessairement parallèles à celles des hématies. Alors que le 21 novembre nous notons une diminution des éléments des lignées blanche et rouge, nous constatons le 24 novembre une diminution des érythrocytes et une augmentation des leucocytes.

La lignée rouge :

La diminution du nombre des globules rouges ne suit pas une loi simple. Après une diminution régulière, nous constatons une régénération sanguine importante de 700 000 éléments le 18 novembre, après quatre injections de deux millilitres de solution concentrée de digitonoside.

L'hémoglobine semble décroître parallèlement. La valeur globulaire varie peu au cours de l'expérimentation ; elle est de 0,83 avant les injections et de 0,85 après neuf injections intraveineuses. Nous décidons de suivre l'évolution de l'anémie des prochains animaux par des dosages quotidiens d'hémoglobine, étant donné la rapidité et la précision de la méthode avec une prise de sang très faible. Nous essaierons alors de déterminer la courbe de diminution des éléments de la lignée rouge et de rechercher éventuellement les lois qui la régissent.

Dans cette expérience, comme dans les suivantes, nous ne constatons pas de normoblastose. Avec des doses uniques de 0,001 à 0,004 g de saponine en injections intraveineuses, PAPPENHEIM et SZECSI (116) remarquent une érythroblastose, les normoblastes étant petits et la plupart du temps pycnotiques avec protoplasme polychromatophile. Cependant KAGAN (87) souligne qu'une intoxication moins accentuée, obtenue avec des doses quotidiennes de 1 à 5 mg de saponine en injection sous cutanée, ne produit aucune érythroblastose. Nous en concluons que le digitonoside est un toxique moins actif que la saponine utilisée par les auteurs allemands.

Autre examen : urée

Par un dosage d'urée sanguine nous avons recherché l'action possible du digitonoside sur les reins. Pour ne pas revenir sur cette question, nous la développerons immédiatement, en tenant compte des différents examens pratiqués au cours de toute notre expérimentation.

Un syndrome diarrhéique est un signe possible de certaines anémies (73). Comme d'autre part il a été également retrouvé dans l'intoxication par les saponines, nous examinerons rapidement cette question.

Reins et intestins

D'après KUNKEL, cité par KAGAN (87), certaines saponines, comme la cyclamine, provoquent de fortes hémoglobinuries avec lésions rénales et intestinales.

KOBERT trouve chez les chats et les chiens qu'il a intoxiqués par la cyclamine, des phénomènes du même genre avec présence d'hémoglobine et de méthémoglobine dans l'urine et de cylindres hématiques dans les reins..

Nous avons vérifié qu'avec des doses répétées de 1,50 mg de digitonoside, certains de ces phénomènes ne se reproduisaient pas chez nos lapins intoxiqués. Dans le sédiment urinaire, nous notons de nombreux cristaux de carbonate et d'oxalate de calcium chez les

animaux les plus atteints, mais jamais de cylindres. Nous constatons seulement de faibles quantités d'albumine, après avoir prélevé l'urine avec une seringue stérile, par ponction de la vessie, le jour du sacrifice. Les dosages d'urée dans le sang révèlent des taux normaux.

Notons que l'irritation de l'intestin a été occasionnée une seule fois et que le syndrome diarrhéique a déterminé la mort du lapin E, en quelques heures. L'animal avait reçu huit injections de solution concentrée de digitonoside, du 16 mars au 25 avril, suivant le même rythme que le lapin F. Son taux d'hémoglobine suivait alors la même évolution que l'autre animal et accusait à cette date une légère hausse (138 g/l). GOUNELLE et CHAUDRE (73) insistent sur ce syndrome diarrhéique dans certaines anémies et constatent que, si la diarrhée est abondante et continue, elle occupe la première place d'une forme d'anémie un peu particulière.

En conclusion, le digitonoside s'avère pratiquement sans action sur les reins dans nos conditions d'expériences. Occasionnellement il détermine un syndrome diarrhéique pouvant conduire à une issue fatale.

Conclusion

— En comparant les résultats de cette expérience avec ceux que nous obtiendrons par la suite, nous pensons que l'étude du lapin A doit être rapprochée de l'étude du lapin F :

Lignée blanche :

Les deux animaux accusent une diminution des leucocytes totaux le jour du sacrifice, avec une nette augmentation des polynucléaires neutrophiles.

Lignée rouge :

Nous constatons dans le sang périphérique, les principaux faits suivants :

- (Diminution des érythrocytes, de l'hémoglobine et de l'hématocrite
- (Nette réticulocytose et résistance moyenne à l'hypotonie de 5 g/l
- (Diminution du volume globulaire moyen.

Moelle :

Le nombre des éléments nucléés de la moelle, après injections, est sensiblement le même : 670 000 et 675 000 par millimètre cube. Les éléments érythroblastiques représentent respectivement 34 et 31 p. 100.

Autre examen :

Nous relevons le même taux de cholestérol total.

Il semble donc que nous puissions conclure au même comportement de ces deux animaux vis-à-vis du toxique envisagé.

CHAPITRE V

EVOLUTION DE L'ANEMIE PROVOQUEE PAR LE DIGITONOSIDE

Nous pensions primitivement abaisser le taux d'hémoglobine des animaux expérimentés à 50 p. 100 de la valeur de départ. Ce fut possible pour le lapin « A » après neuf injections et pour le lapin « G » après trois injections seulement. Ce résultat ne fut pas obtenu chez certains animaux après plus de vingt injections.

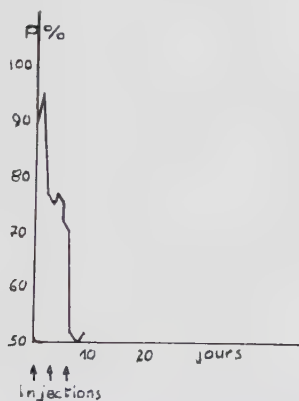


FIG. 29

Lapin G — Taux d'hémoglobine en fonction du temps

Avant de décrire et de discuter les courbes explicitant la teneur de l'hémoglobine en fonction du temps, signalons qu'un lapin, dénommé « I » devait mourir par une embolie provoquée par le digitonoside. Les travaux de HAUBRICH (76) ont montré que de petites doses de saponine augmentent la coagulabilité du sang, contrairement aux moyennes et fortes doses, ce qui explique que l'animal mourait subitement quelques minutes après une injection poussée trop rapidement. Nous pensons qu'un caillot a été formé par les injections précédentes dans les petits vaisseaux et qu'il a été libéré dans la circulation générale sous l'action de la pression du liquide injecté. Nous développerons cette question à propos du lapin J (page 243).

Taux d'hémoglobine en fonction du temps

Depuis le début des expériences, l'état de la plupart des animaux est suivi par le taux d'hémoglobine, presque journellement. Les graphiques établis permettent de constater que le taux d'hémoglobine

tombe assez rapidement aux environs de 50 p. 100. La rapidité de cette diminution varie avec l'animal considéré. Il faut trois injections en huit jours pour atteindre ce résultat avec le lapin G (fig. 29). Pour tous les autres animaux, le taux d'hémoglobine tombe plus lentement.

La courbe de diminution des érythrocytes affecte la même allure que celle de l'hémoglobine, comme nous l'avons vérifié. La comparaison des graphiques obtenus à partir des lapins J et A est assez explicite sur ce sujet. Nous avons noté sur le même abaque le taux d'hémoglobine en fonction du temps (lapin J) et le nombre des hématies en fonction du temps (lapin A). Fig. 30. La première de ces courbes (en pointillé) est obtenue par des dosages fréquents du taux d'hémoglobine ; la seconde (en trait plein), relie les chiffres de numération globulaire ; les résultats enregistrés sont alors moins nombreux, mais notons cependant la correspondance des ordonnées dans la grande majorité des cas.

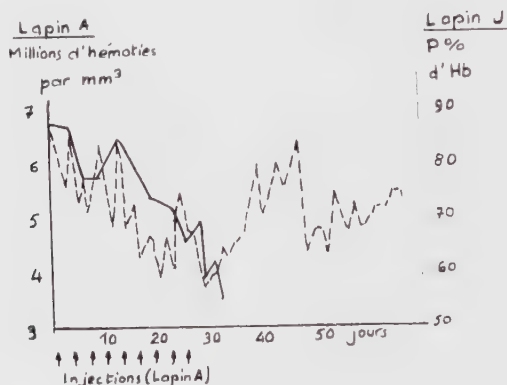
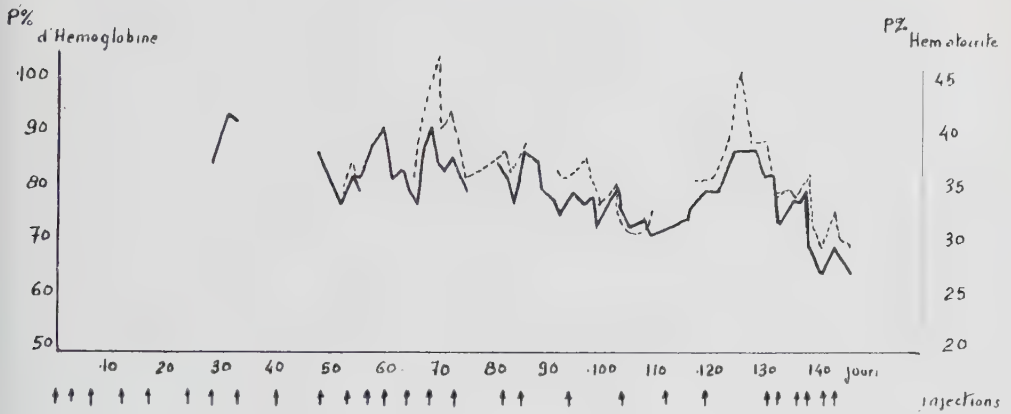


FIG. 30

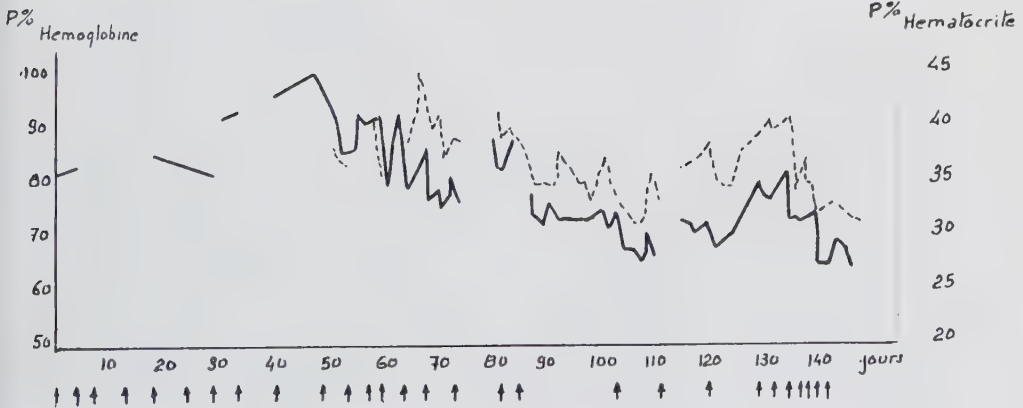
Comparaison entre les courbes du *lapin J* (en pointillé)
et du *lapin A* (courbe continue)

Avec les lapins F et H nous avons, le plus souvent, mesuré simultanément le taux d'hémoglobine et le taux d'hématocrite. Les courbes obtenues conduisent aux mêmes constatations, les variations étant pratiquement parallèles (Fig. 31 et 32).



Lapin F — FIG. 31

En trait continu : Taux d'hémoglobine en fonction du temps.
 En pointillé : Taux d'hématocrite en fonction du temps.



Lapin H — FIG. 32

En trait continu : Taux d'hémoglobine en fonction du temps.
 En pointillé : Taux d'hématocrite en fonction du temps.

Pour expliquer ces variations nous examinerons en détail une courbe qui nous apparaît comme la plus typique, celle du lapin B (fig. 33 et 34).

Etude de la courbe du lapin B

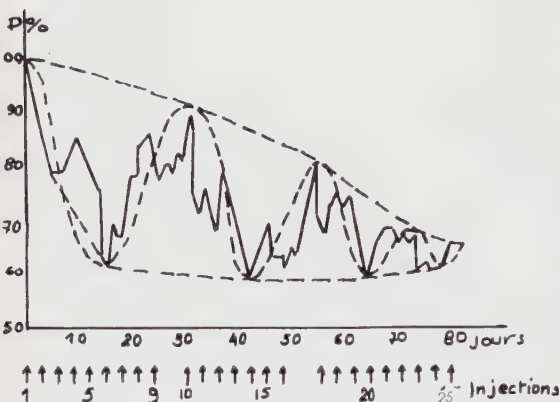


FIG. 33

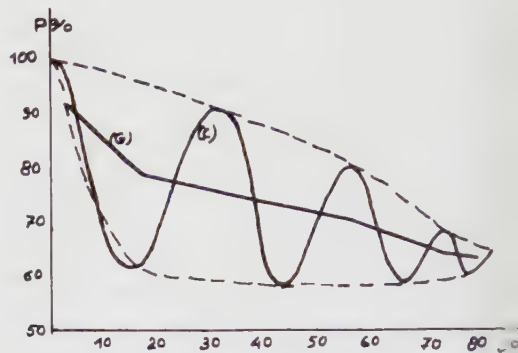


FIG 34

Lapin B — Taux d'hémoglobine en fonction du temps.

Graphique de gauche : courbe expérimentale.

Graphique de droite : tendance générale (G) et composante cyclique (C).

Il est surprenant de constater combien le graphique ainsi obtenu est analogue à celui qui, dans un domaine complètement différent, représente l'évolution dans le temps des facteurs économiques (analyse des séries chronologiques). On peut distinguer dans ce graphique, à propos des animaux trois composantes ou tendances :

a) la composante journalière, qui traduit l'influence sur la variable considérée (taux d'hémoglobine dans le cas présent) d'un grand nombre de facteurs relevant principalement à notre avis de la météoropathologie.

b) la composante cyclique « C » traduisant les alternatives d'augmentation ou de diminution.

c) la tendance générale « G », qui au travers des fluctuations plus ou moins amples, mais de durées limitées, paraît se dégager de l'évolution de la variable considérée sur une longue période. Cette courbe est d'allure exponentielle dans notre cas.

L'analyse d'une série chronologique consiste à en dégager les diverses composantes. Les statisticiens estiment que ce problème est complexe et qu'il est susceptible de recevoir un grand nombre de solutions, toutes plus ou moins empiriques, mais dont les résultats se révèlent, en pratique, relativement concordants. Nous nous sommes limités à déterminer la tendance générale et la composante cyclique et nous exposerons dans les lignes qui vont suivre les méthodes que nous avons employées pour construire les courbes correspondantes.

La tendance générale :

Le graphique représentatif du taux d'hémoglobine en fonction du temps suggère, au travers d'importantes variations, la tendance à la diminution ; il s'agit de préciser cette impression en la traduisant sous forme graphique. Plusieurs procédés permettent d'obtenir ce résultat. L'intérêt de cette courbe ne justifiant pas de longs calculs, l'ajustement exponentiel et l'établissement de la droite de tendance par la méthode des moindres carrés ont été écartés. Des deux procédés graphiques, procédé des moyennes mobiles et procédé graphique des points médians, c'est ce dernier qui a été retenu, car il se recommande par sa simplicité et sa rapidité.

On joint les maximums, puis les minimums (courbes pointillées, fig. 33) ; sur l'ordonnée de chaque jour, on détermine les points équidistants de la ligne des maximums et de celle des minimums. Cette opération n'est nécessaire que pour les ordonnées correspondant à un maximum ou à un minimum, les points médians intermédiaires restant alignés.

La composante cyclique :

C'est elle qui retient l'attention dans la mesure où ses variations permettent de déceler les phases d'augmentation ou de diminution. L'analyse en est parfois rendue délicate par l'irrégularité des mouvements cycliques, tant en ce qui concerne leur durée que leur amplitude.

La valeur de la composante cyclique peut se déduire de la tendance générale et de la composante journalière. L'application de cette méthode exige des calculs longs et ardues et ne présente qu'un médiocre intérêt. Nous avons donc construit cette courbe approximativement.

Conclusion

La diminution des globules rouges et du taux d'hémoglobine est un phénomène très complexe ; il existe des alternatives d'augmentation malgré la destruction intensive des hématies par le digitonoside. Et si la tendance à la diminution se fait suivant une loi exponentielle, il n'en existe pas moins une courbe d'allure sinusoïdale avec des maximums et des minimums de l'érythrocytémie. Nous essaierons de l'expliquer dans le prochain chapitre sur la régénération sanguine.

CHAPITRE VI

REGENERATION SANGUINE

Introduction

Après une première saignée soustrayant environ la moitié du volume sanguin d'un chien normal, FONTES et THIVOLLE (60) constatent que le déficit en hématies et en hémoglobine, créé expérimentalement, est comblé de façon plus ou moins complète en une semaine, si la saignée est suivie d'une injection d'eau salée à 9 p. 1000, de volume identique au volume sanguin soustrait.

Par des injections de lysocithine à des lapins, de VRIES (148) provoque un syndrome hémolytique avec une forte baisse de globules rouges et d'hémoglobine, une crise réticuloecytaire, de l'anisocytose, habituellement l'apparition d'hématies à granulations basophiles, de polychromatophilie marquée, d'une diminution de l'hématocrite et du daimètre moyen ; malgré ces variations importantes, de VRIES constate que ces changements sont de courte durée.

A considérer à la fois l'amplitude du phénomène, sa rapidité et le fait qu'apparaissent dans la circulation des hématies presque normales, FONTES et THIVOLLE ajoutent qu'ils sont tentés de penser qu'il s'agit de globules déjà préformés et que libère, avant maturité complète, une brutale intervention.

A la lueur de travaux plus récents que nous allons examiner, nous essaierons de dégager les raisons de ce que RINGENBACH (134) appelle la polyglobulie à « court terme », attribuée classiquement à une splénocontraction et la polyglobulie à « long terme », qui relève d'une suractivité médullaire, à laquelle nous ajouterons une prolifération extramédullaire possible.

1^{er} temps : polyglobulie à court terme Explications des variations journalières

SCHAPIRA et coll. (137) rappellent que GIBSON et coll. ont montré, par la méthode au fer radioactif, qu'il n'existe pas de globules rouges mis en réserve et ne participant pas à la circulation générale, et que 17 p. 100 du sang total se trouvent dans les vaisseaux de petites dimensions. L'étude de l'hématocrite permet de connaître la répartition du reste. Dans les différents organes, l'hématocrite du sang est inférieur à la valeur moyenne trouvée voisine de 40 p. 100 (poumon 35 ; muscles 20 - 25 ; reins, tube digestif, cerveau 15 - 20) avec deux exceptions importantes : foie 40 p. 100 et surtout rate 80 p. 100.

Une polyglobulie à court terme, une réparation rapide d'une anémie légère peuvent donc s'expliquer par un phénomène de compen-

sation dû à une splénocontraction, d'origine sympathique. Divers facteurs sont à l'origine des réactions du système nerveux. Nous rapportons un certain nombre de faits trouvés dans la littérature et qui expliquent les variations journalières du nombre des globules rouges que nous avons décelées au cours de nos expériences.

Selon RINGENBACH (133), la concentration des hématies est plus forte d'environ 30 p. 100 dans le sang capillaire que dans le sang veineux chez un sujet atteint d'hypertension artérielle simple, alors qu'elle est la même chez un sujet normal. En altitude, il décele le même phénomène de stase capillaire, avec inégalité de répartition des hématies ; il l'explique par la dépression atmosphérique entraînant la raréfaction de l'oxygène, puis le froid, le vent, l'intensité des radiations solaires, surtout ultraviolettes, enfin la fatigue.

BEYNE, BINET et STRUMZA (19) ont expérimenté sur le chien pour étudier la dépression atmosphérique sur les variations numériques des hématies. Les résultats obtenus montrent que la réaction polyglobulique à court terme peut être rapportée à deux facteurs : l'un biochimique, l'anoxémie ; l'autre mécanique, la rapidité de la dépression atmosphérique.

JOKL (82) expérimente l'adrénaline à petite dose. Il détermine un crochet ascensionnel brusque de la courbe des érythrocytes, leucocytes, thrombocytes et de l'hémoglobine. Une courbe parallèle est obtenue par un court travail musculaire déterminant la même excitation sur le sympathique. L'appauvrissement en oxygène du sang est vraisemblablement le facteur d'excitation du sympathique et JOKL a vérifié, chez le lapin, cette influence de la privation d'oxygène sur la courbe sanguine. Il rapporte aussi ses recherches chez les sportifs. La courbe ici est encore analogue, avec ascension des chiffres leucocytaires, modification du rapport polynucléaires et mononucléaires ; puis une chute se produit allant plus bas que les chiffres initiaux. L'auteur admet un véritable système régulateur avec excitation sympathique par le travail musculaire et prédominance compensatrice du parasymphatique durant le repos.

BAGDASSAROV (7) rapporte que la médecine soviétique, se basant sur les nombreuses investigations de SETCHENOV, de BOTKINE et de PAVLOV, adhère résolument au nervisme, doctrine physiologique selon laquelle l'influence du système nerveux s'étend sur les processus biologiques compliqués. Selon BOTKINE, l'hématogénèse est réglée par le système nerveux. Les troubles fonctionnels du système nerveux supérieur (surmenage de l'activité nerveuse supérieure par exemple) suscitent des modifications dans l'hématogénèse. Ainsi s'observait l'absence de leucocytose digestive, la déviation vers la gauche de la formule d'Arneth, en même temps qu'augmentait le nombre des éosinophiles segmentés ; les érythrocytes, l'hémoglobine, les thrombocytes et les réticulocytes se multipliaient également.

En conclusion, si la splénocontraction d'origine sympathique peut être déclenchée par le système nerveux central, des facteurs biochimiques, comme l'anoxémie, sont aussi à son origine. Enfin de nombreux phénomènes météorologiques ont aussi un rôle non négligeable, ce qui explique que des auteurs comme GILLON, GAULTIER et FABRE (69) aient calculé l'importance de la corrélation existant

entre les séries d'examens du semestre d'hiver et les séries d'examens du semestre d'été.

C'est par ces interventions du sympathique que nous expliquons les oscillations désordonnées du nombre des globules rouges au cours de nos expériences de destruction des hématies par le digitonoside. Les fluctuations, dues à l'erreur expérimentale, n'expliquent sûrement pas l'ensemble des différences observées. Maints biométriciens ont insisté sur ces oscillations observées dans divers domaines (SCHREIDER, 139).

2^{me} temps : polyglobulie à long terme

Dans nos expériences, où les hématies sont directement détruites dans les vaisseaux par le digitonoside, la première réaction de l'organisme est de les protéger d'une nouvelle attaque du toxique. Le phénomène de protection consiste ici en l'enrobage par le cholestérol plasmique des globules qui échappent ainsi à l'action de la saponine (KAGAN), ce qui explique l'amplitude de plus en plus faible des maximums et des minimums observés.

Les globules rouges qui ont été détruits ne sont pas inutiles : tous les matériaux libérés seront préférentiellement employés ; c'est ainsi que SCHAPIRA et coll. (137) ont montré que l'utilisation du fer des globules rouges détruits est vingt fois supérieure à celle du fer administré par voie orale.

FERRARI (57) constate qu'à la suite d'injections périodiques d'hémoglobine ou de dérivés de l'hémoglobine à des grenouilles anémiées expérimentalement, on trouve une augmentation considérable de l'hémoglobine du sang et du nombre des érythrocytes ; il prouve aussi que l'augmentation est plus forte par injection d'hémoglobine que par celle d'hématine. Nous aurons l'occasion de revenir sur ce réemploi des matériaux au cours de la description des différents processus de régénération.

BROCQ et STEPHANOPOLI (29) ont aussi décrit un mode de reproduction des érythrocytes par bourgeonnement dans le sang circulant. Les oxydations biologiques déclenchent ou précipitent un mouvement très spécial d'évolution qui tend à individualiser et à libérer la masse centrale des globules rouges sous l'aspect d'un nucléoïde ou d'un bourgeon anhémoïdique. L'hémoglobine libérée lors de la destruction des hématies se reporte pour la plus grande part sur les globules qui sont en circulation. La fraction non utilisée n'est pas détruite, mais constitue une réserve dont l'utilisation est tôt réalisée. Ce n'est qu'à longue échéance, estiment FONTES et THIVOLLE (59) que le pigment est catabolisé, le groupement tétrapyrrolique constituant l'origine des pigments biliaires et le fer étant effectivement en réserve dans le foie, la rate et les ganglions lymphatiques.

Ces derniers faits expliquent que nos animaux, malgré la destruction massive des érythrocytes au cours des expériences, n'aient pas été victimes d'ictères ou de néphrites en relation avec l'utilisation immédiate des matériaux libérés.

Un autre processus de régénération a été décrit par MUNK - PLUM (111). L'auteur estime que les érythrocytes sont produits par

une désagrégation du protoplasma et ne sont pas un produit d'évolution cellulaire. Des calculs ont montré à cet auteur qu'une origine uniquement cellulaire conduirait à une mitose, toutes les trois secondes ; une telle vitesse lui paraît impossible. Par ailleurs, l'activité mitotique peut être complètement interrompue par l'addition de colchicine à des cultures de moelle osseuse et ce produit ne modifie pratiquement pas la vitesse de reproduction des érythrocytes. Il ne lui semble donc pas possible que la notion généralement acceptée de la formation des érythrocytes avec disparition secondaire du noyau soit exacte. Dans une série d'expériences avec une moelle humaine sternale maintenue vivante *in vitro* dans du liquide de Locke, l'auteur observe une discrète formation d'érythrocytes qui cesse après huit à dix heures, mais qui se prolonge en cas d'hémolyse, ce dernier fait libérant probablement des substances nutritives. MUNK - PLUM conclut qu'il y a certains principes actifs dans le sérum, dont quelques-uns sont nécessaires à la production des globules rouges et dont d'autres sont nécessaires à la maturation des réticulocytes ; certains sont simultanément nécessaires dans ces deux processus. PLUM (123) observe, sur le lapin, que la substance de maturation des réticulocytes est également présente en petite quantité dans les érythrocytes.

BOSTROM (24) pense alors que les hématies sont formées de la manière suivante : le protoplasme se détache des cellules mères par un processus d'étranglement. La majorité des cellules mères à noyaux se trouve dans le parenchyme de la moelle osseuse près des capillaires sanguins. D'après DOAN, une aspiration vers la lumière des capillaires se produit au fur et à mesure que la dilatation rythmée de ces éléments avance ; les pseudopodes émis par les érythroblastes passent à travers la membrane capillaire. Un pseudopode libéré se transforme en proérythrocyte, qui contient une quantité considérable de substance réticulaire. L'érythroblaste qui semble être tout à fait intact après l'étranglement du protoplasme, peut librement donner naissance à plusieurs érythrocytes. Selon PLUM, il y aurait ainsi formation de deux érythrocytes par heure.

Enfin la régénération sanguine s'explique par l'hyperplasie médullaire consécutive à une hypertrophie fonctionnelle ; on peut la concevoir, selon LEIBETSEDER (93), comme une augmentation des mitoses homoplastiques qui peut être considérée comme un processus de la moelle osseuse pour mener à bien la demande élevée de régénération. Les divisions homoplastiques peuvent expliquer la structure des érythroblastes qui ressemblent aux mégalo blasts et qu'ISAAC et MOCKEL avaient trouvés par des injections intraveineuses répétées de saponine (87).

Pour compléter ce sujet, notons les travaux de BUSSY, cités par JOURNOUD (84). En pratiquant chez le chien des ponctions médullaires répétées à de brefs intervalles de temps, l'auteur observe l'existence d'une certaine périodicité dans le rythme des mitoses. Le nombre des prophases passe par une série de maximums et de minimums.

Lorsque les prophases commencent à décroître, le taux des métaphases augmente, passe par un maximum lorsque les prophases sont au plus bas et décroît ensuite ; simultanément à cette décroissance des métaphases on observe une ascension des téléphases, ascension par

conséquent synchrone à celle des prophases suivantes. L'expérimentation de BUSSY reste très intéressante en ce qu'elle démontre l'existence des trains de mitoses, des ondes de mitoses. En rappelant l'explication de DOAN pour qui l'aspiration des cellules nucléées de la moelle vers la lumière des capillaires se produit au fur et à mesure que la dilatation « rythmée » de ces éléments avance, peut-être avons-nous l'explication de ces variations périodiques des globules rouges dont le nombre en fonction du temps affecte une allure sinusoïdale.

A la suite d'un déficit érythrocytaire, la régénération sanguine s'intensifie, ce qui conduit dans la circulation périphérique des éléments jeunes qui sont libérés rapidement de la moelle par exagération de l'érythrodiabase. Il s'ensuit des modifications des caractères physiques et des composants chimiques des nouvelles populations. Les augmentations du diamètre et de la résistance globulaire à l'hypotonie seront vérifiées ultérieurement. SCHAPIRA et ROSA (138) ont aussi montré que les globules jeunes mis en circulation à la suite d'une hémolyse massive ont un taux d'enzyme bas, mais relativement plus élevé que celui des cellules disparues par hémolyse. De plus, au cours de la réparation d'une anémie chez le lapin, l'organisme couvre le déficit hémoglobinique par l'hémoglobine alcalino-résistante (BENARD, DANTCHEV et GAJDOS, 9) ; c'est une variété du pigment sanguin, dont la synthèse est plus rapide, d'après les travaux que SCHAPIRA et coll. (137) ont effectués avec le fer radioactif.

Le taux de l'hémoglobine non alcalino-résistante reste à son niveau bas pendant la réparation de l'anémie ; il commence à se relever seulement lorsque le nombre des hématies a atteint la valeur initiale (GAJDOS, 63). La formation élective de la variété alcalino-résistante, explique GAJDOS, peut être considérée comme un phénomène d'adaptation aux besoins accrus en pigment sanguin néoformé. Les deux variétés de pigment ne diffèrent que par une légère modification de la globine, les groupements prosthétiques étant, par contre, identiques pour les deux hémoglobines.

*3^{me} temps : prolifération hypercompensatrice
Origine extramédullaire*

On sait que les maladies hémolytiques, surtout celles qui se prolongent quelque peu, sont caractérisées non seulement par l'érythrocytopenie et l'érythroblastose périphérique, mais également par la prolifération hypercompensatrice des érythroblastes dans les organes internes. ALEKSANDROWICZ (2) estime que cette dernière a souvent un caractère hyper, ana et métaplastique. Dans la rate, le foie, le thymus, la glande surrénale, etc... apparaissent des foyers de développement d'érythroblastes qui revêtent l'aspect de paraérythroblastes. Le mécanisme de la naissance proliférative des érythroblastes au cours des anémies hémolytiques s'explique par la tendance à combler les pertes en érythrocytes, tendance qui devient une hypercompensation pathologique. Elle s'explique d'une part par l'action des biostimulants qui proviennent des érythrocytes détruits, d'autre part par le fait de la conservation dans l'organisme du matériel facilement assimilable qu'exploitent les érythrocytes et qui, bien plus que les substances

nutritives, constitue une matière première toute prête qui sert à la rénovation des érythrocytes (FERRARI, 57).

STODTMEISTER (113) estime aussi que le mésenchyme indifférencié donne naissance à une génération histioérythroblastique lorsque la souche normoérythroblastique n'est plus capable, avec sa capacité proliférative, de répondre à l'intensité du stimulus.

Des foyers métaplasiques de la rate et des capillaires du foie ont ainsi été trouvés par ISAAC et MOCKEL (*) à la suite d'injections répétées de saponine.

En conclusion nous attribuerons la rapide régénération sanguine, consécutive à la destruction massive des globules par le digitonoside, à différentes causes :

- 1) un phénomène de protection des érythrocytes par le cholestérol,
- 2) un phénomène possible de gemmation qui permet une érythropoïèse intravasculaire,
- 3) une phénomène d'hyperplasie médullaire,
- 4) un mode de reproduction par désagrégation du protoplasme de l'érythroblaste acidophile.

Dans le cas d'une nouvelle formation d'érythrocytes, l'hémoglobine est fournie soit par celle des hématies détruites, soit par la synthèse rapide d'une variété alcalino - résistante.

(*) Cité par KAGAN (87).

CHAPITRE VII

Le premier groupe d'animaux que nous examinerons maintenant a reçu une faible quantité de digitonoside, qui a provoqué une anémie caractérisée par :

- 1) une diminution de la résistance globulaire moyenne à l'hypotonie,
- 2) une augmentation du diamètre érythrocytaire moyen.

Nous étudierons les résistances globulaires à l'hypotonie et les diamètres en utilisant les courbes de distribution des hématies suivant ces paramètres. Nous établirons les courbes de chaque animal au moyen des données expérimentales réunies dans des tableaux que nous publions à la fin de chaque observation.

Chaque animal sera souvent l'occasion du développement d'une question particulière, si la compréhension de son cas le demande.

Dans le premier groupe d'examen nous étudierons :

- à propos du lapin G (chapitre 7) :
 - l'action du digitonoside sur les plaquettes et les leucocytes,
 - les preuves que nous avons d'une hypoplasie médullaire.
- à propos du lapin C (chapitre 8) :
 - l'hypercholestérolémie provoquée par les spoliations érythrocytaires,
 - l'interprétation du test de résistance globulaire à l'hypotonie.
- à propos du lapin D (chapitre 9) :
 - l'interprétation du taux de fer sérique,
 - les preuves que nous avons d'une hyperplasie dissimulée.

Deuxième observation — Lapin G

L'animal est de constitution normale. Son poids est de 3 075 grammes au début de l'expérience. Depuis sa naissance il n'a jamais eu de maladies infectieuses.

L'examen hématologique, pratiqué avant toute injection, révèle :
Sang périphérique :

- Globules rouges : 5 700 000 ; Hématocrite : 39,5 p. 100 ;
- Hémoglobine : 127 g/l (97 p. 100) ;
- Valeur globulaire relative : 0,87 ;
- Valeur globulaire absolue : 22,2 ; Réticulocytes : 1,4 p. 100
soit 80 000 ;
- Hématies à granulations basophiles : 0,45 p. 100, soit 25 000 ;
- Leucocytes : 7 250
- Plaquettes : 396 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	15,0
Polynucléaires éosinophiles	2,0
Polynucléaires basophiles	1,5
Lymphocytes	80,0
Monocytes	1,5

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,25 microns
 Volume globulaire moyen : 69,29 micron-cubes
 Concentration globulaire moyenne : 32,1 p. 100
 Indice de sphérocytose : 0,54

Courbe de Price-Jones

La courbe diamétrale est légèrement déviée vers la gauche par suite d'un fort pourcentage d'hématies de 6 microns ; les valeurs extrêmes rencontrées sont de 5,5 microns et 7 microns ; la base de la courbe est étroite et l'anisocytose est à 7,12 p. 100, ce qui prouve l'homogénéité de la population érythrocytaire.

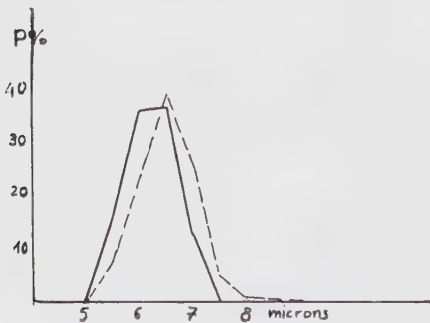


FIG. 35

LAPIN G

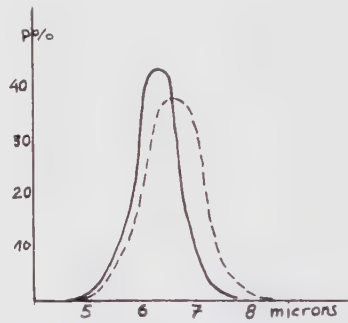


FIG. 36

FIG. 35 — *Courbes diamétrales expérimentales*

FIG. 36 — *Courbes théoriques correspondantes*

En trait plein : courbe avant injections.

En pointillé : courbe normale.

Courbe de fragilité osmotique :

La courbe de résistance globulaire à l'hypotonie présente aussi une base étroite, si on la compare à la courbe normale. L'hémolyse commence pour des concentrations en chlorure de sodium de 6 grammes par litre ; l'hémolyse est totale pour 4 g/l ; la résistance moyenne est de 4,89 g/l et le coefficient de variation a une valeur de 9,1 p. 100, soulignant l'homogénéité des hématies.

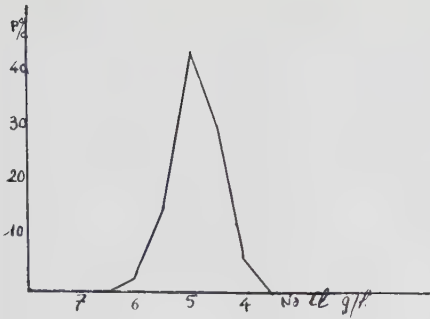


FIG. 37

LAPIN G

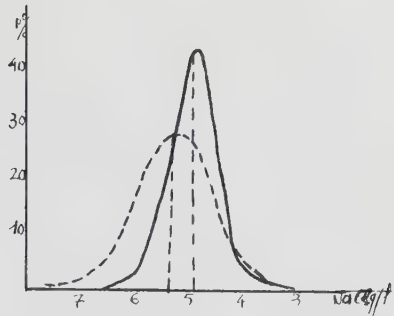


FIG. 38

FIG. 37 — *Courbe de fragilité osmotique*

FIG. 38 — *Courbes théoriques*

En trait plein : courbe avant injections.

En pointillé : courbe normale.

Après tous ces examens nous considérons que l'animal est normal, malgré la lymphocytose importante. Chez des sujets transportés de la campagne à la mer, comme ce fut le cas ici, SALINGER (135) a trouvé que l'examen du sang montrait une augmentation sensible des lymphocytes du sang ; il invoque pour expliquer ce phénomène une excitation des tissus lymphoïdes, par des facteurs climatiques.

Nous commençons les injections de solution concentrée de digitonoside. Trois injections sont faites en une semaine. Nous suivons quotidiennement, par des dosages d'hémoglobine, l'évolution de l'anémie provoquée (fig. 29, page 191). Après une légère augmentation du taux d'hémoglobine le lendemain de l'injection, ce dernier baisse régulièrement ; vingt-quatre heures après la deuxième injection, nous notons encore une légère hausse du taux d'hémoglobine. Après huit jours d'expériences, nous décidons de sacrifier l'animal qui a perdu 50 p. 100 de ses hématies circulantes.

L'animal a perdu sa vivacité habituelle et il mange moins ; il n'a cependant que peu maigri, puisque son poids est de 3 000 grammes ; KAGAN (87) note qu'après chaque injection intraveineuse de saponine, il y a une rétrogradation du poids de l'ordre de 50 à 100 grammes, d'après les tableaux qu'il a publiés. La perte de 75 grammes que nous trouvons est donc significative et correspond aux injections de digitonoside. Notons que c'est le seul animal qui ait subi une perte de poids, parce que c'est le seul lapin qui n'ait pas eu d'augmentation du nombre de ses hématies, après une baisse importante, au cours de notre expérimentation. Nous verrons que la régénération sanguine entraîne toujours un gain de poids (FONTES et THIVOLLE, 59).

Un examen complet est pratiqué au moment du sacrifice ; il révèle :

Hématies : 3 320 000 ; Hématocrite : 27,0 p. 100 ;
 Hémoglobine : 75 g/l (57 p. 100) ;
 Valeur globulaire relative : 0,87 ;
 Valeur globulaire absolue : 22,2 ; Réticulocytes : 7,3 p. 100 (soit 242 000) ;
 Sidérocytes : 365 000 ;
 Hématies à granulations basophiles : 1,43 p. 100 (soit 47 000) ;
 Globules blancs : 10 030
 Plaquettes : 368 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	31,0
Polynucléaires éosinophiles	0,5
Polynucléaires basophiles	4,0
Lymphocytes	57,5
Monocytes	7,0

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,85 microns
 Volume globulaire moyen : 81,3 microns
 Concentration globulaire moyenne : 27,7 p. 100
 Indice de sphérocytose : 0,48

Courbe de Price-Jones :

La courbe présente une déviation vers la droite avec une anisocytose importante. La valeur dominante est toujours de 6,5 microns, mais le diamètre moyen est augmenté : 6,84 microns. La schizocytose est représentée par 0,4 p. 100 d'hématies de 3,5 microns. Il y a peu de microcytes : 1,5 p. 100 de globules de 5 microns. La macrocytose, par contre, est importante : 49,5 p. 100 d'hématies ont 7 microns ou plus, avec 6,1 p. 100 d'érythrocytes de 8,5 microns. La courbe de Price Jones montre donc une base très large et même en négligeant la schizocytose qui est très faible, le coefficient d'anisocytose a une valeur de 12,8 p. 100.

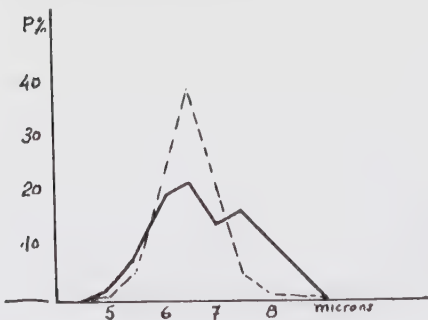


FIG. 39

LAPIN G

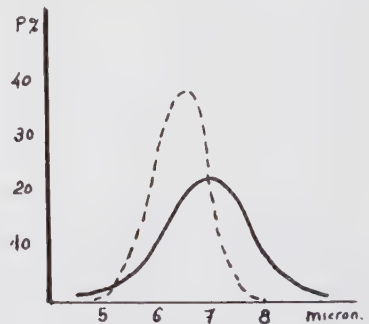


FIG. 40

FIG. 39 — *Courbes diamétrales expérimentales*

FIG. 40 — *Courbes théoriques correspondantes*

En trait pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe après 3 injections.

Courbe de fragilité osmotique :

La résistance moyenne est un peu diminuée : 5,49 g/l ; l'aspect général de la courbe de distribution des érythrocytes suivant leur fragilité osmotique présente un aspect comparable à la courbe diamétrale. L'hétérogénéité de la population est démontrée par un coefficient de variation de 13,51 p. 100. L'hémolyse commence pour des concentrations en chlorure de sodium de 7 g/l et elle est totale pour 3,5 g/l.

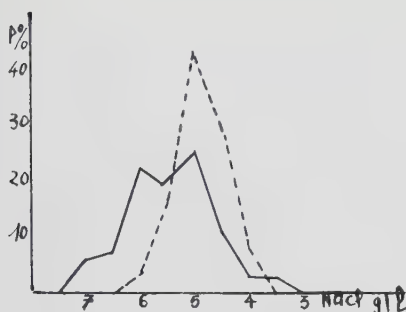


FIG. 41

LAPIN G

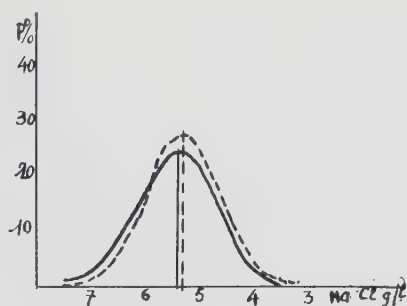


FIG. 42

FIG. 41 — *Courbes de fragilité osmotique*

FIG. 42 — *Courbes théoriques*

En pointillé : courbe avant injections (Fig. 41)
et courbe normale (Fig. 42)

En trait plein : courbe après 3 injections.

Le myélogramme :

Myéloblastes	4,0
Promyélocytes	1,0
Myélocytes neutrophiles	7,0
Myélocytes éosinophiles	1,0
Métamyélocytes neutrophiles	6,0
Polynucléaires neutrophiles	36,0
Polynucléaires éosinophiles	1,0
Lymphocytes	8,0
Monocytes	3,0
Proérythroblastes + Erythroblastes basophiles ..	11,0
Erythroblastes polychromatophiles et orthochromatiques	22,0

Normoblastes : 33 p. 100, soit 61 875 par millimètre cube

Sidéroblastes : 29 p. 100, soit 18 000 par millimètre cube

Numération des éléments de la moelle : 187 500

Autres examens :

Fer sérique : 170 microgrammes pour 100 ml.

Cholestérol total : 1,50 g/l

Urée : 0,45 g/l

Poids du lapin : 3 000 grammes

DISCUSSION DES PRINCIPAUX FAITS OBSERVÉS

La lignée plaquettaire :

Nous observons une faible diminution du nombre des plaquettes.

A la suite des expériences de BUNTING (31), nous savons que les plaquettes sont détruites par les saponines et que, de même, leur nombre est très abaissé par une hémorragie importante. Dans les deux cas BUNTING a montré que chez le lapin leur augmentation précède celle des hématies ; leur nombre atteint ensuite un maximum, bien au-dessus de la normale, avec retour au nombre habituel chez l'animal en survie.

On peut comprendre pourquoi le nombre des plaquettes est toujours augmenté avant celui des hématies. BRECHER, STOHLMAN et CRONKITE (27) ont montré que la thrombocytopénie entraîne l'extravasation des hématies et leur réabsorption par les canaux lymphatiques ; un grand nombre de ces hématies extravasées sont alors détruites dans les ganglions régionaux. Enfin les globules rouges qui ont échappé à l'érythrophagocytose sont lésés pendant le parcours des lymphatiques, ce qui réduit la survie moyenne des hématies dans la circulation. Tant que le nombre des plaquettes est insuffisant pour empêcher les hémorragies internes, le nombre des hématies ne peut pas augmenter dans le sang périphérique.

En conclusion, nous savons que les hématies du lapin G amorcent leur augmentation numérique, puisque le jour du sacrifice le dernier dosage d'hémoglobine est en hausse et comme l'augmentation des plaquettes précède toujours celle des globules rouges, le nombre des thrombocytes n'accuse pas de grande différence avec celui du sang normal.

La lignée blanche :

Nous observons une légère leucocytose.

Après une intoxication par la saponine, BUNTING estime qu'aucune relation ne peut être faite de l'étude de la leucocytose. Sur quatre lapins examinés, il constate seulement une augmentation des leucocytes dans un cas, alors que les plaquettes sont à leur plus bas point. PAPPENHEIM et SZECSI (116) remarquent que les globules blancs sont toujours augmentés et ils pensent que la saponine produit une leucocytose toxique.

MAS Y MAGRO (106) souligne l'influence du système nerveux et démontre que si la saponine produit un ralentissement de la segmentation médullaire du noyau des granulocytes, l'atropine arrête les effets de la saponine.

En définitive, il ne semble pas que le digitonoside ait une action très facile à déterminer sur le nombre des globules blancs. La légère leucocytose que nous retrouvons dans sept expériences sur huit se situe toujours dans les limites normales, si nous comparons les résultats à la moyenne générale. Nous essaierons, à la fin de notre expérimentation, de tirer cependant quelques conclusions.

La lignée rouge :

Les divers examens confirment l'installation de l'anémie. Le nombre des érythrocytes est diminué, ainsi que l'hématocrite. Le taux d'hémoglobine est abaissé dans les mêmes proportions que celui des hématies et la valeur globulaire relative est toujours de 0,87.

La courbe de Price Jones révèle la présence de schizocytes et de microcytes à côté d'un nombre important de macrocytes, ce qui explique que la microcytose est totalement masquée par l'expression des valeurs moyennes ; le diamètre moyen est en effet augmenté de 0,60 micron au cours de l'expérience et le volume globulaire moyen est de 81,3 micron-cubes au lieu de 69,29. L'indice de sphéricité est par contre diminué.

L'augmentation du volume globulaire moyen semble en relation avec l'augmentation du nombre des réticulocytes dont le diamètre moyen est supérieur à celui des érythrocytes, comme PERSONS (117) l'a montré sur des frottis. La présence accrue de ces réticulocytes explique encore l'augmentation de la résistance globulaire à l'hypotonie de certains globules rouges ; l'étude du lapin H nous en apportera la preuve.

La courbe de fragilité osmotique met en évidence l'hétérogénéité de la population érythrocytaire. Celle-ci comporte des cellules qui ne sont détruites que pour des concentrations en chlorure de sodium voisines de quatre grammes par litre (nous verrons dans le chapitre XIII qu'il s'agit probablement de réticulocytes) et d'autres éléments lysés pour des concentrations en chlorure de sodium de sept grammes par litre qui devraient s'avérer inoffensives. Les derniers éléments, fragiles, pourraient être supposés en état de sphération pré-hémolytique (102) ; en fait ils ne le sont pas comme le démontre l'indice de sphéricité, qui est diminué. La baisse de la résistance globulaire s'explique par l'âge moyen élevé des hématies qui ont résisté au digitonoside ; nous développerons ce point de vue au cours de l'étude du lapin C.

Etude de la moelle osseuse :

Nous observons que le nombre des éléments nucléés de la moelle est très abaissé ; c'est le seul cas rencontré au cours de notre expérimentation.

Nous pourrions l'expliquer par la richesse de la moelle qui serait variable d'un point à un autre, suivant JOURNOUD (85) ; nous éliminons cette hypothèse en raison de l'importance relative du prélèvement médullaire qui est de l'ordre de 0,10 gramme.

Nous rejetons aussi l'idée d'une exagération transitoire de la diabase au moment du sacrifice de l'animal, qui se traduirait par

une augmentation importante du nombre des éléments des trois lignées dans le sang périphérique.

Nous pensons qu'il s'agit d'un épisode d'hypoplasie transitoire qui serait d'après BOUSSER et coll. (26) plus fréquent qu'on ne pourrait le penser au cours des anémies hémolytiques. Nous appuyons notre argumentation sur trois observations :

- a) diminution du nombre des lymphocytes dans le sang périphérique, depuis le début de l'expérimentation ;
- b) pourcentage élevé des sidéroblastes de la moelle osseuse ;
- c) augmentation du fer sérique.

a) *Lymphopénie du sang périphérique et hypoplasie médullaire.*

TRAMONTANO (106) a montré que la glande thyroïde joue un rôle de stimulation sur la lymphopoïèse et que la diminution du nombre des lymphocytes est un signe d'hypofonctionnement thyroïdien. Nous savons aussi qu'ARVY (4) a observé qu'un hypofonctionnement thyroïdien entraîne une hypoplasie médullaire, soulignant l'importance du fonctionnement thyroïdien dans la régulation de l'hématopoïèse.

Nous en déduisons que la diminution des lymphocytes que nous constatons pourrait constituer un signe indirect par relais thyroïdien d'une hypoplasie de la moelle du lapin G. A la fin de notre étude, dans le chapitre des corrélations, nous avons recherché si l'on pouvait envisager une liaison entre la diminution des lymphocytes au cours de notre expérimentation et le nombre des éléments nucléés de la moelle osseuse de tous les animaux. Nous y trouverons un indice « r » relativement élevé, ayant une valeur de + 0,65, ce qui appuie notre supposition, mais à lui seul cet argument ne paraît cependant pas à nos yeux suffisant.

b) *Fer sérique et sidéroblastes.*

En faveur de notre hypothèse d'hypoplasie médullaire transitoire nous avons un argument important. Nous avons recherché, dans le chapitre des corrélations, la liaison qui existe entre le nombre des sidéroblastes de la moelle osseuse et le taux de fer sérique du sang périphérique, à la suite d'une intoxication par le digitonoside. Nous avons trouvé qu'il existe une liaison certaine ($r = - 0,46$). Pour se convaincre de cette corrélation, il suffit de comparer dans un tableau les divers résultats obtenus, en disposant par ordre croissant le nombre de sidéroblastes par millimètre cube.

TABEAU 80

Lapins	Nombre de sidéroblastes (milliers par mm ³)	Fer sérique (microgrammes pour 100 ml)
G	18	170
J	21	163
H	23	154
F	32	134
B	104	—
C	91	146

Nous constatons qu'à un taux de fer sérique élevé correspond en général un nombre diminué de sidéroblastes et qu'il existe en conséquence un équilibre dynamique entre le fer ferritique et le fer plasmétique véhiculé par la transferrine (BESSIS, 14). Comme nous observons que le taux de 29 p. 100 des sidéroblastes du lapin G est le plus élevé de tous les pourcentages trouvés au cours de notre expérimentation, nous en déduisons que le nombre des éléments nucléés de la moelle est certainement plus faible que chez les autres animaux et nous pensons pouvoir conclure que l'hypoplasie médullaire du lapin G est réelle et non le fait d'un prélèvement malheureux.

Notre raisonnement précédent se justifie par la parenté qui, selon ISAAC et MOCKEL, (*) existerait entre l'anémie pernicieuse et l'intoxication par les saponines.

Certains auteurs, comme FRUHLING, ROGER et SPEHLER (62) admettent que la moelle biernérienne, d'abord très hyperplasique, peut évoluer spontanément vers l'hypoplasie progressive et probablement même vers l'aplasie plus ou moins totale et qu'il existe des cas sans hyperplasie médullaire ou même avec hypoplasie objectivée par le taux bas des éléments nucléés de la moelle et corroborée par la constatation simultanée d'une chute inhabituellement rapide du nombre des hématies dans le sang périphérique.

L'étude du lapin G nous donne un exemple d'hypoplasie médullaire avec une chute inhabituellement rapide du nombre des hématies du sang périphérique.

Nous constaterons par contre, au cours de notre expérimentation que les lapins C, B et J sont des exemples d'hyperplasie médullaire et que nous avons une évolution vers l'aplasie avec les animaux F et surtout H, qui ont reçu la plus grande quantité de digitonoside. Et, dans tous les cas, la chute du nombre des hématies est beaucoup plus lente.

N.B. : légende des tableaux 81 et 82, p. 212 et 213.

1^{re} colonne : numéros des hématies prises au hasard ;

2^e colonne : surface des hématies en mm² en parcourant deux fois le tour de l'hématie par planimétrie.

(*) Cités par KAGAN (87).

MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « G »
APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE
DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 81

1	120	51	118	101	121	151	140
	84		154		97		131
	106		96		111		182
	136		165		165		189
5	106	55	166	105	166	155	119
	106		136		142		98
	111		170		143		129
	98		124		111		104
	100		94		120		148
10	123	60	156	110	78	160	110
	140		160		92		94
	134		108		94		92
	166		78		96		116
	163		82		110		155
15	174	65	86	115	95	165	75
	169		131		102		80
	183		92		139		66
	178		189		87		112
	134		166		119		84
20	100	70	140	120	165	170	157
	136		148		88		140
	96		148		115		128
	160		124		92		82
	128		92		81		132
25	190	75	140	125	119	175	127
	118		154		98		98
	110		160		89		150
	120		124		87		112
	174		106		130		100
30	100	80	134	130	31	180	181
	112		188		128		106
	190		120		110		120
	168		120		142		139
	120		102		112		108
35	114	85	111	135	105	185	117
	97		118		69		98
	174		118		134		199
	132		138		148		183
	170		140		162		148
40	146	90	156	140	140	190	159
	140		160		141		93
	187		122		113		100
	156		78		68		130
	166		94		166		82
45	96	95	106	145	153	195	137
	100		120		73		141
	114		154		90		179
	166		122		197		145
	156		164		155		86
50	111	100	107	150	90	200	122

MESURE DE SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « G »,
APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE
DE DIGITONOSIDE. (suite)

TABEAU 82

201	91	221	105
	91		123
	95		94
	145		100
205	152	225	103
	105		131
	102		112
	145		99
	130		178
210	105	230	192
	114		
	147		
	164		
	155		
215	142		
	185		
	109		
	119		
	106		
220	96		

Surface totale mesurée : 28 606 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 62,8 mm², ce qui correspond à un diamètre de 6,84 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones.

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
20,0 à 28,0	3	0
28,0 à 37,4	3,5	0,4
37,4 à 48,0	4	0
48,0 à 60,0	4,5	0
60,0 à 73,0	5	1,5
73,0 à 87,6	5,5	5,9
87,6 à 103,6	6	20,0
103,6 à 120,8	6,5	22,6
120,8 à 139,4	7	13,9
139,4 à 159,4	7,5	17,8
159,4 à 180,6	8	11,7
180,6 à 203,2	8,5	6,1
203,2 à 227,0	9	0

**ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU
LAPIN « G », APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.**

TABLEAU 83

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
3,5	0,4			
4	0			
4,5	0			
5	1,5	— 3	4,5	13,5
5,5	5,9	— 2	— 11,8	23,6
6	20,0	— 1	— 20,0	20,0
6,5	22,6	0	0	0
7	13,9	+ 1	+ 13,9	13,9
7,5	17,8	+ 2	+ 35,6	71,2
8	11,7	+ 3	+ 35,1	105,3
8,5	6,1	+ 4	+ 24,4	97,6
Total	99,6 + 0,4		+ 67,9	345,1

Résultats en données abrégées

Moyenne : $67,9 / 100 = 0,68$
 Terme C : $(67,9)^2 / 100 = 46,1$
 Somme des carrés :
 $345,1 - 46,1 = 299$
 Variance : $299 / 98,6 = 3,03$

Résultats en données originales

Moyenne :
 $6,50 + (0,68 \times 0,5) = 6,84$
 Variance : $3,03 \times (0,5)^2 = 0,76$
 Ecart type : $\sqrt{0,76} = 0,877$

**DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE.
APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE
DE DIGITONOSIDE. LAPIN « G ».**

TABLEAU 84

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 6,84			P % = 57,01 f (t)	
s = 0,877			t = 1,14 (x — 6,84)	
1/s = 1,1403			f (t) = $1 / \sqrt{2\pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,84)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8,50	1,66	1,881	0,0681	3,88
8	1,16	1,311	0,1692	9,64
7,50	0,66	0,741	0,3034	17,29
7	0,16	0,1825	0,3925	22,37
6,85	0	0	0,3989	22,74

ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DU LAPIN « G », APRES TROIS INJEC-
TIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 85

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7,5	0			
7	5,5	+ 4	+ 22,0	88,0
6,5	8,5	+ 3	+ 25,5	76,5
6	22,0	+ 2	+ 44,0	88,0
5,5	19,5	+ 1	+ 19,5	19,5
5	27,0	0	0	0
4,5	12,5	— 1	— 12,5	12,5
4	3	— 2	— 6	12
3,5	2	— 3	— 6	18
3	0			
Total	100		+ 97,3	314,5

Résultats en données abrégées

Moyenne : $97,3 / 100 = 0,97$

Terme C : $(97,3)^2 / 100 = 94,67$

Somme des carrés :

$$314,5 - 94,67 = 220$$

Variance : $220 / 99 = 2,20$

Résultats en données originales

Moyenne :

$$5 - (0,97 \times 0,5) = 5,49$$

Variance : $2,20 \times (0,5)^2 = 0,55$

Ecart type : $\sqrt{0,55} = 0,742$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE, APRES TROIS INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « G ».

TABLEAU 86

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 5,49			P % = 67,38 f (t)	
s = 0,742			t = 1,34 (x — 5,49)	
1 / s = 1,3477			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 5,49)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8	2,51	3,382	0,0013	0,087
7,50	2,01	2,708	0,0102	0,687
7	1,51	2,035	0,0500	3,369
6,50	1,01	1,361	0,1582	10,660
6	0,51	0,687	0,3150	21,226
5,50	0,01	0,013	0,3989	26,879
5,49	0	0	0,3989	26,879

CHAPITRE VIII

Troisième observation — Lapin C

L'animal est de constitution normale. Son poids est de 3 230 grammes avant que les expériences ne soient commencées et nous n'avons aucune maladie à signaler.

L'examen hématologique, pratiqué avant toute injection, révèle :

Sang périphérique :

Erythrocytes : 4 990 000 ; Hématocrite : 36,8 p. 100 ;
Hémoglobine : 120 g/l (92 p. 100) ;
Valeur globulaire relative : 0,94 ;
Valeur globulaire absolue : 24,0 ; Réticulocytes : 1,1 p. 100
(55 000) ;
Sidérocytes : 79 840 ;
Hématies à granulations basophiles : 1,0 p. 100 (soit 49 000) ;
Leucocytes : 7 750
Plaquettes : 470 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	37,0
Polynucléaires éosinophiles	2,0
Polynucléaires basophiles	3,0
Lymphocytes	53,0
Monocytes	5,0

Les mensurations :

Diamètre moyen : 6,78 microns
Volume globulaire moyen : 73,74 micron-cubes
Concentration globulaire moyenne : 32,6 p. 100
Indice de sphérocytose : 0,45

Courbe de Price-Jones :

La courbe de Price Jones révèle une population normale avec peut-être une légère tendance vers la macrocytose, comme le met en évidence la superposition de la courbe diamétrale avant injections et la courbe diamétrale normale. Le mode est égal à 7 microns, au lieu de 6,5 habituellement. Tous les globules rouges ont un diamètre compris entre 5,5 et 7,5 microns. La base de la courbe est donc étroite ; elle se superpose à la base normale ; l'anisocytose est à 7,75 p. 100.

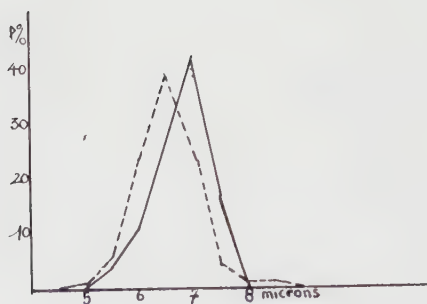


FIG. 43

LAPIN C

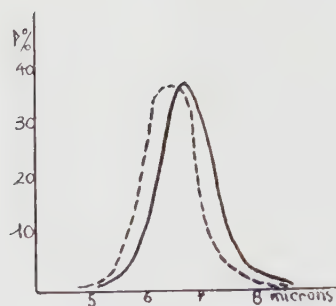


FIG. 44

FIG. 43 — *Courbes diamétrales*FIG. 44 — *Courbes théoriques correspondantes*

En trait plein : courbe avant injections.

En pointillé : courbe normale.

Courbe de fragilité osmotique :

La courbe de résistance à l'hypotonie a une base plus étroite que la courbe normale, montrant ainsi une homogénéité très nette de la population. L'hémolyse commence à 6.50 g/l de chlorure de sodium et elle est totale à 4 g/l, avec une moyenne de 5.27 g/l, valeur très voisine de la moyenne générale. Le coefficient de variation est de 3,99 p. 100. Comme toujours chez un animal normal, il est facile de faire correspondre les deux courbes de distribution (diamètre et fragilité osmotique).

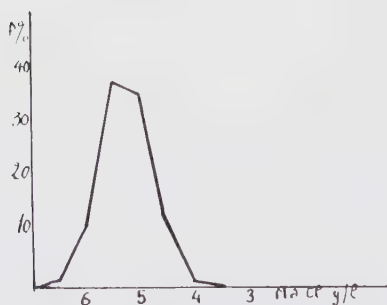


FIG. 45

LAPIN C

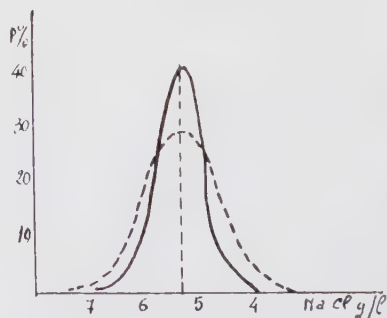


FIG. 46

FIG. 45 — *Courbe de fragilité osmotique*FIG. 46 — *Courbes théoriques*

En trait plein : courbe avant injections.

En pointillé : courbe normale.

Après tous ces examens, nous considérons que l'animal est normal et nous commençons les injections de solution concentrée de digitonoside. La quantité de toxique injectée sera la même que pour le lapin G, afin de vérifier si l'hypoplasie médullaire déjà constatée est de même nature, ou le seul fait de l'action du digitonoside à ses débuts, et si la diminution de la résistance globulaire est un phénomène constant dans les premiers jours d'action du toxique, ou seulement un phénomène aléatoire.

En treize jours d'expériences nous injectons sept fois un millilitre de solution concentrée de digitonoside, (*) puis nous décidons de sacrifier l'animal. Un essai préliminaire nous informe que le nombre des hématies est très peu diminué, malgré l'action destructrice du glucoside. Nous savons que le phénomène de régénération sanguine dépend de nombreux facteurs et qu'un tel chiffre de numération n'est que la preuve d'un bon comportement réactionnel de l'individu examiné. Nous avons la confirmation du résultat de la numération par la mesure de l'hématocrite et le dosage de l'hémoglobine. Les déterminations des diamètres érythrocytaires et de la résistance globulaire nous révéleront par leur sensibilité qu'il y a néanmoins un début d'anémie.

L'état général de l'animal est assez peu altéré ; son poids est de 3 315 grammes, accusant une augmentation d'environ cent grammes, résultante de deux facteurs agissant en sens contraire : d'une part, diminution de poids due aux injections intraveineuses de saponine, comme KAGAN l'a souligné, d'autre part, augmentation de poids due à la régénération sanguine, comme FONTES et THIVOLLE (59) l'ont montré.

Un examen complet nous révèle :

Hématies : 4 900 000 ; Hématocrite : 31,5 p. 100 ;
Hémoglobine : 120 g/l (92 p. 100) ;
Valeur globulaire relative : 0,95 ;
Valeur globulaire absolue : 24,2 ; Sidérocytes : 637 000 ;
Réticulocytes : 88 000 ;
Hématies à granulations basophiles : 34 000 ;
Leucocytes : 7 400
Plaquettes : 792 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	13,0
Polynucléaires éosinophiles	2,0
Polynucléaires basophiles	19,5
Lymphocytes	52,5
Monocytes	13,0

Mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,61 microns
Volume globulaire moyen : 64,28 micron-cubes
Concentration globulaire moyenne : 38,0 p. 100
Indice de sphérocytose : 0,42

(*) N.B. : Sept injections d'un millilitre de solution concentrée de digitonoside correspondent sensiblement aux trois injections reçues par le lapin G, suivant le protocole décrit page 18. Pour permettre un examen comparatif, nous considérerons dans les pages qui vont suivre que les lapins C et D ont reçu trois injections.

Courbe de Price-Jones :

La courbe théorique, plus explicite que la courbe expérimentale, révèle une légère tendance à la macrocytose. Le diamètre moyen est passé de 6,41 microns avant injections à 6,57 microns après les injections. Le plus petit érythrocyte rencontré a un diamètre de 5,5 microns, témoignant qu'il n'y a ni microcytose, ni schizocytose. La macrocytose est constatée par la présence de globules rouges de 8,5 microns. Le coefficient d'anisocytose est de 8,07 p. 100.

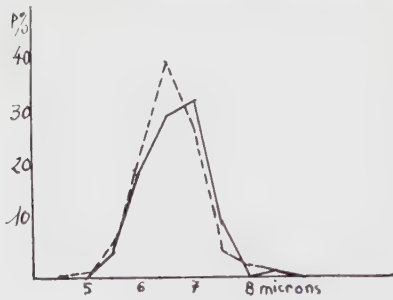


FIG. 47 LAPIN C

FIG. 47 — *Courbes diamétrales*

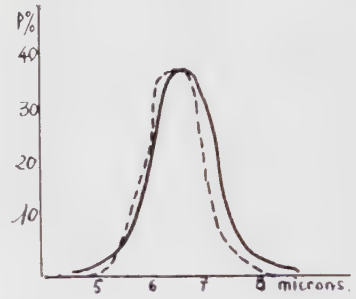


FIG. 48

FIG. 48 — *Courbes théoriques correspondantes*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe après trois injections.

Courbe de fragilité osmotique :

La courbe de fragilité osmotique révèle une diminution de la résistance moyenne des hématies qui est de 6,04 g/l. L'hémolyse commence pour des concentrations en chlorure de sodium de 7 g/l : elle est totale pour 3,00 g/l. Deux populations sont mises en évidence et la première est totalement détruite pour une concentration de 5 g/l de chlorure de sodium. Le coefficient de variation est de 9,60 p. 100 si l'on tient compte de cette seule population.

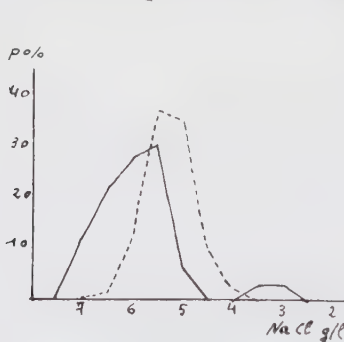


FIG. 49 LAPIN C

FIG. 49 — *Courbes de fragilité osmotique*

FIG. 50 — *Courbes théoriques*

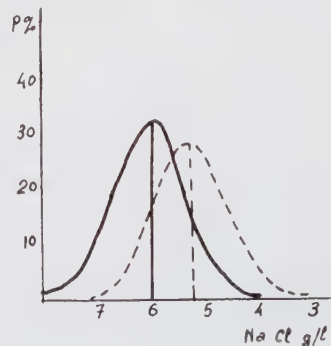


FIG. 50

En pointillé : courbe avant injections (Fig. 49)
et courbe normale (Fig. 50)

En trait plein : courbe après trois injections.

Myélogramme :

Myéloblastes	3,0
Promyélocytes	3,0
Myélocytes neutrophiles	12,0
Myélocytes éosinophiles	2,0
Métamyélocytes neutrophiles	10,0
Polynucléaires neutrophiles	30,0
Polynucléaires éosinophiles	2,0
Lymphocytes	11,0
Monocytes	2,0
Proérythroblastes + Erythroblastes basophiles ...	5,0
Erythroblastes polychromatophiles et orthochr....	20,0

Sidéroblastes : 27 p. 100, soit 91 000 par millimètre cube

Numération des éléments de la moelle : 1 335 000

Autres examens :

Fer sérique : 146 microgrammes pour 100 ml

Cholestérol total : 1,10 g/l

Poids du lapin : 3 313 grammes

DISCUSSION DES PRINCIPAUX FAITS OBSERVES

Le Sérum :

Pour la deuxième fois consécutive, nous observons une hypercholestérolémie, signe constant de l'intoxication par le digitonoside, comme nous le verrons. Nous en développerons l'étude quand nous aurons décrit les principaux faits hématologiques du sang périphérique.

La lignée plaquettaire :

Nous notons une nette augmentation des plaquettes ; elle est conforme aux déductions de BUNTING (31). La régénération sanguine est importante et les hématies n'accusent aucune diminution ; mais on sait qu'au début de la régénération les hématies subissent encore des pertes par hémorragies internes, (27) ce qui explique le nombre des plaquettes toujours plus vite augmenté et qui atteint ici un chiffre supérieur à la normale, par hypercompensation pathologique. L'hyperplaquettose est associée à une légère leucopénie.

La lignée rouge :

Le nombre des érythrocytes est sensiblement normal, mais l'hématocrite est un peu diminué. Le taux d'hémoglobine suit la même courbe que le nombre des hématies et la valeur globulaire est pratiquement inchangée. La diminution du volume globulaire moyen et

du diamètre moyen sont en rapport avec le faible pourcentage de réticulocytes ; ces derniers sont néanmoins augmentés en nombre.

Nous observons, comme toujours dans la suite, une réaction réticulocytaire associée à une nette augmentation des sidérocytes. Nous en tirerons les conclusions en fin d'étude (lapin H).

Etude de l'hypercholestérolémie :

KAGAN (87) avait déjà constaté que les érythrocytes de lapin sont très sensibles à l'action de la saponine par suite de leur faible teneur en cholestérol (0,72 g/l) (1). En utilisant la saponine Merk. KURT MEYER (*) établit que la résistance des érythrocytes dépend du rapport lécithine / cholestérol des globules rouges du sang. KOBERT (*) pense que les érythrocytes sont enrobés par le cholestérol plasmatique et qu'ils échappent ainsi à l'action des saponines, ce qui se traduit par un affaiblissement de l'activité érythrolytique de l'hémolysant.

D'après PONDER (125), quand on emploie le digitonoside, on admet généralement qu'il y a formation d'une combinaison digitonoside-cholestérol, qui se forme à la surface des globules rouges, et que l'excès d'hémolysant se fixe sur les hématies. Cet auteur montre « in vitro » qu'une deuxième population de globules rouges exige environ dix fois la quantité de digitonoside nécessaire à la lyse d'une première population. Or, on sait par SCHAPIRA et coll. (137) que c'est la population des jeunes hématies qui est la première atteinte par un toxique ; c'est que probablement, le cholestérol est en plus faible quantité à l'intérieur du globule.

L'hypercholestérolémie n'est pas une réaction réservée aux intoxications par les saponines ; elle suit toute destruction ou perte érythrocytaire. CHAMBERLAIN et CORLETT (38) anémient des lapins par saignées ou par injections de chlorhydrate de phénylhydrazine. Ils observent, sitôt la saignée, une chute de cholestérol du sang et du plasma, puis, si l'on répète les saignées pendant plusieurs jours, on observe une remontée du cholestérol qui peut atteindre 300 ou 400 p. 100 de sa valeur initiale. Il y a d'ailleurs un hyperlipémie générale.

Les animaux, tués pendant la période d'hyperlipémie, présentent une assez faible teneur des surrénales en cholestérol, due probablement à ce que celles-ci fournissent une grande partie du cholestérol du sang.

Le rôle de protection du cholestérol vis-à-vis des globules rouges, est très bien mis en évidence par les expériences effectuées par de VRIES (149). L'auteur montre d'abord qu'à l'aide de l'injection intraveineuse d'un extrait préparé à partir de sérum humain normal et formé de lysocithine, il est possible de provoquer chez des animaux d'expériences (lapin) un syndrome entièrement identique à l'anémie hémolytique aiguë. Or, ce syndrome ne se produit pas si l'on provoque auparavant une hypercholestérolémie par injection de cholestérol au début, et d'huile d'olive ensuite.

(1) Cholestérol total chez le lapin : 0,58 g/l (KOHL, 88).

(*) Cité par KAGAN (87).

De plus, il constate qu'après retour du taux de cholestérol à la normale, les nouvelles injections ne provoquent pas une anémie hémolytique aussi intense que celle qui se produit chez des animaux non traités, phénomène qu'il n'explique pas. Sans doute, faut-il admettre une augmentation du cholestérol intraglobulaire.

En conclusion, l'hypercholestérolémie que nous observons est une réaction de défense de l'organisme qui protège ses hématies restantes par des moyens accrus. L'hypercholestérolémie n'est pas un signe d'intoxication par le digitonoside avec formation d'un complexe inactif ; c'est un signe, qui semble constant, de spoliation érythrocytaire et qui peut succéder à une simple hémorragie.

Etude de la résistance globulaire :

Pour expliquer la baisse de la résistance globulaire à l'hypotonie, nous ne pouvons pas invoquer le phénomène de sphération prélytique. Nous avons calculé que l'indice moyen de sphéricité est de 0,54 chez les animaux, avant les expériences, et nous constatons qu'il est diminué dans tous les cas, à la suite des injections de digitonoside. C'est en conformité avec les travaux de PAPPENHEIM (116) et KAGAN (87), qui constatent que les saponines sont des hémolysants *in vitro*, mais non pas *in vivo*. Le digitonoside ne fait pas exception.

A la recherche d'un critère du pouvoir oxyphorétique du sang conservé, ENSELME, FAVRE-GILLY et CREYSSEL (55) ont admis que la baisse de résistance globulaire, qui précède l'hémolyse, n'est pas l'indice d'une modification profonde déjà réalisée, mais qu'elle exprime seulement une possibilité de défaillance. Nous pouvons expliquer cette possibilité de défaillance, non par une action propre du toxique, mais par l'âge des hématies.

SCHAPIRA, DREYFUS et KRUH (137) relatent l'expérience de HAHN : cet auteur marque « *in vivo* » les globules rouges d'un chien à l'aide de fer radioactif et administre ensuite de l'acétylhydrazine ; dans ces conditions, le nombre des globules rouges baisse et l'activité spécifique des hématies (rapport du fer radioactif au fer total) augmente. Il en résulte, d'après l'auteur, que les jeunes globules rouges, qui n'ont pu incorporer de fer radioactif, sont les plus sensibles à l'action du toxique.

Si nous admettons la même action « *in vivo* » du digitonoside, les hématies jeunes du lapin sont préférentiellement détruites par le poison et les hématies âgées, qui sont seules restées après l'action du toxique, expliquent le début de l'hémolyse dans les solutions de chlorure de sodium titrées à 7,00 g/l, par suite de leur faible résistance à l'hypotonie.

Nous savons aussi que les nouvelles hématies qui sont déversées dans le sang périphérique sont protégées par l'hypercholestérolémie déclenchée par les premières injections, ce qui explique l'augmentation des réticulocytes, responsables de la macrocytose observée, réticulocytes qui sont détruits dans les tubes ayant une concentration en chlorure de sodium de 4 g/l ou au-dessous.

Conclusion :

Nous constatons que l'indice de sphéricité est diminué et qu'il n'y a pas de sphération préhémolytique pour expliquer la diminution de la résistance globulaire et la macrocytose. Nous pensons que les hématies les plus jeunes sont détruites quand on injecte les premières quantités de digitonoside et que les nouveaux érythrocytes sont ensuite protégés par l'hypercholestérolémie.

L'étude des globules rouges devient l'étude d'un mélange d'hématies formé de deux populations :

— la population primitive, âgée, de diamètre moyen ou petit, responsable de la diminution de la résistance globulaire.

— la population jeune, nouvellement arrivée, protégée par le cholestérol, qui est cause de la macrocytose et de l'augmentation de la résistance globulaire.

La proportion des deux populations est fonction de la durée de l'expérimentation. Dans le cas présent, la population primitive âgée est importante et la proportion de population jeune protégée par le cholestérol est faible.

La proportion des deux populations, jeune et primitive, nous donne sans doute l'explication de certaines associations que l'on peut rencontrer dans une anémie ; on observe parfois des macrocytoses avec une résistance globulaire qui peut être normale, diminuée ou augmentée ; ce ne sont pas nécessairement des syndromes distincts mais souvent une modalité transitoire au cours des différentes périodes de la même maladie, comme l'avait supposé QUATTRIN (cité par RIETTI, 132).

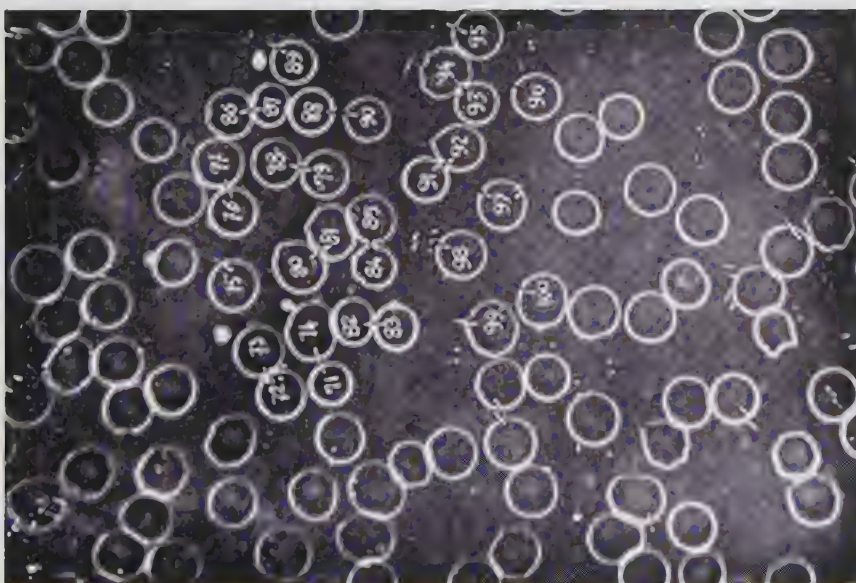
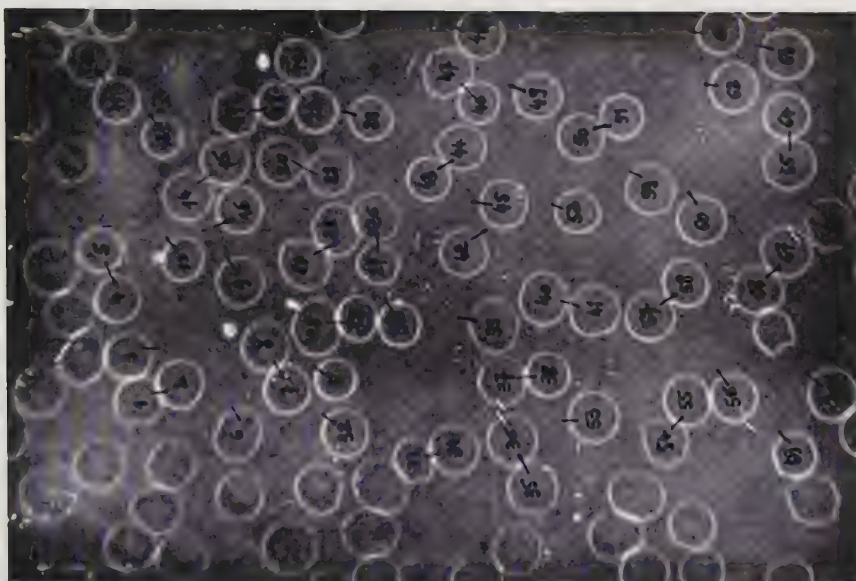
Nous aurons la confirmation de notre raisonnement au cours de l'étude de l'intoxication provoquée par le digitonoside chez d'autres animaux d'expérience.

Etude de la moelle :

Comme l'avaient déjà signalé ISAAC et MOCKEL, puis plus tard HANDRICK (cités par KAGAN, 87), à la suite d'injections répétées de saponine, nous constatons une forte hyperplasie médullaire. Nous supposons qu'elle fait suite à l'hypoplasie constatée chez le lapin G et qu'elle constitue le second temps de la réaction de la moelle osseuse, à moins que l'hypoplasie signalée soit un cas d'espèce, comme nous l'avons déjà dit.

L'examen des frottis nous montre que l'intoxication par doses faibles de digitonoside ne détermine pas de variations statistiquement significatives du pourcentage des différentes catégories cellulaires, ni d'altération profonde de la morphologie de ces éléments. Nous savons que les trois lignées sont atteintes dans le sang par les saponines et que l'hyperplasie médullaire en est la conséquence.

Malgré un pourcentage normal, le nombre des sidéroblastes de la moelle osseuse par millimètre cube est très élevé avec pour corollaire, comme nous l'avons montré, un taux de fer sérique relativement bas.



LAPIN C — après injections

**MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « C »
APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE
DE DIGITONOSIDE.**

1^{re} colonne : numéro de l'hématie.

2^e colonne : surface lue en mm².

TABLEAU 87

1	124	26	110	51	100	76	114
	109		87		101		127
	122		150		145		120
	114		92		112		113
5	101	30	98	55	123	80	140
	123		85		114		126
	117		115		182		95
	120		90		114		95
	122		133		131		90
10	98	35	130	60	130	85	120
	107		130		114		122
	121		122		128		80
	81		103		130		110
	125		150		113		98
15	122	40	142	65	141	90	100
	111		148		128		97
	115		123		129		114
	75		100		130		90
	99		117		103		133
20	118	45	122	70	136	95	127
	110		94		85		112
	106		128		116		123
	98		130		125		118
	134		115		152		147
25	125	50	115	75	123	100	140

Surface totale mesurée : 11 682 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 58,41 mm², ce qui correspond à un diamètre de 6,61 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
60,0 à 73,0	5	0
73,0 à 87,6	5,5	6
87,6 à 103,6	6	20
103,6 à 120,8	6,5	30
120,8 à 139,4	7	33
139,4 à 159,4	7,5	10
159,4 à 180,6	8	0
180,6 à 203,2	8,5	1
203,2 à 227,0	9	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU LAPIN « C » APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 88

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f.	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
5	0			
5,5	6	— 3	— 18	54
6	20	— 2	— 40	80
6,5	30	— 1	— 30	30
7	33	0	0	0
7,5	10	+ 1	+ 10	10
8	0			
Total	99		— 78	174

Résultats en données abrégées

Moyenne : $— 78 / 99 = — 0,78$

Terme C : $(78)^2 / 99 = 60,8$

Somme des carrés :

$174 — 6,08 \# 114$

Variance : $114 / 98 = 1,14$

Résultats en données originales

Moyenne :

$7 — (0,78 \times 0,5) = 6,61$

Variance : $1,14 \times (0,5)^2 = 0,285$

Ecart type : $\sqrt{0,285} = 0,534$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE, APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « C ».

TABLEAU 89

Données expérimentales		Equation de la courbe théorique		
m = 6,61		P % = 93,63 f (t)		
s = 0,534		t = 1,87 (x — 6,61)		
1/s = 1,8727		f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-t^2}$		
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,61)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8,50	1,89	3,53	0,0008	0,07
8	1,39	2,59	0,0139	1,30
7,50	0,89	1,66	0,1006	9,42
7	0,39	0,73	0,3056	28,61
6,61	0	0	0,3989	37,35

ETUDE STATISTIQUE DE LA PREMIERE POPULATION D'HEMATIES DETERMINEE PAR LE TEST DE RESISTANCE A L'HYPOTONIE, APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « C ».

TABLEAU 90

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
8	0			
7,5	0,31	+ 3	+ 0,93	2,79
7	11,87	+ 2	+ 23,74	47,48
6,5	22,18	+ 1	+ 22,18	22,18
6	29,68	0	0	0
5,5	20,93	— 1	— 20,93	20,93
5	8,43	— 2	— 16,86	33,72
4,5	0			
4	0			
3,5	3,43	(deuxième population		
3	3,12			
Total	93,40		+ 9,06	127,10

*Résultats en données abrégées*Moyenne : $9,06 / 93,4 = + 0,09$ Terme C : $(9,06)^2 / 93,4 = 0,87$

Somme des carrés :

$$127 - 0,87 \neq 126$$

Variance : $126 / 92,4 = 1,36$ *Résultats en données originales*

Moyenne :

$$6 + (0,09 \times 0,5) = 6,04$$

Variance : $1,36 \times (0,5)^2 = 0,34$ Ecart type : $\sqrt{0,34} = 0,580$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESISTANCE A L'HYPOTONIE, APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « C ».

TABLEAU 91

<i>Données expérimentales</i>		<i>Equation de la courbe</i>		
m = 6,04		P % = 85,76 f (t)		
s = 0,58		t = 1,71 (x — 6,04)		
1/s = 1,71		$f(t) = 1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
NaCl g/l x	(x — 6,04)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8	1,96	3,36	0,0014	0,12
7,50	1,46	2,49	0,0180	1,54
7	0,96	1,64	0,1040	8,91
6,50	0,46	0,78	0,2943	25,23
6,04	0	0	0,3989	34,20

CHAPITRE IX

Quatrième observation : Lapin D

L'animal est en bonne santé apparente. Son poids est de 3 105 grammes et aucune maladie n'est à signaler depuis sa naissance.

Au début de l'expérience, il est pratiqué un certain nombre d'examens hématologiques dont voici le résultat :

Sang :

Hématies : 4 120 000 ; Hématocrite : 34,8 p. 100 ;
Hémoglobine : 112 g/l (86 p. 100) ;
Valeur globulaire relative : 1,06 ;
Valeur globulaire absolue : 27,0 ; Sidérocytes : 20 060 ;
Réticulocytes : 1,9 p. 100 (soit 78 000) ;
Hématies à granulations basophiles : 0,07 p. 100 (soit 2 800) ;
Leucocytes : 6 630
Plaquettes : 543 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	28,25
Polynucléaires éosinophiles	0,50
Polynucléaires basophiles	5,25
Lymphocytes	57,70
Monocytes	8,25

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,41 microns
Volume globulaire moyen : 84,4 micron-cubes
Concentration globulaire moyenne : 31,8 p. 100
Indice de sphérocytose : 0,61

Courbe de Price-Jones :

La courbe de Price-Jones a une base assez large ; si les plus grands érythrocytes ont un diamètre de 8,5 microns et si les plus petits ont un diamètre de 5,5 microns, la très grande majorité des hématies a cependant un diamètre compris entre 5,5 et 7,5 microns. L'anisocytose est à 8,50 p. 100 et le diamètre moyen est de 6,41 microns.

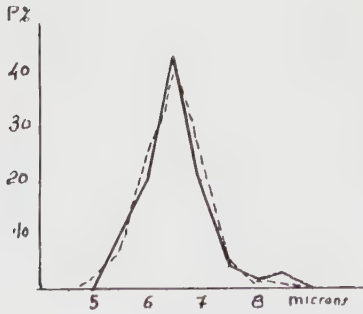


FIG. 51

LAPIN D

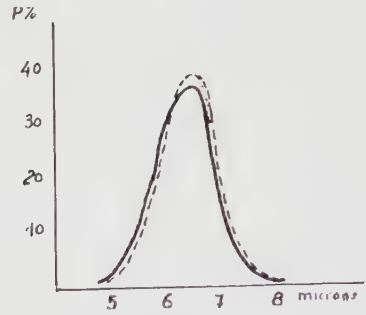


FIG. 52

FIG. 51 -- *Courbes diamétrales*

FIG. 52 -- *Courbes théoriques correspondantes*

En trait plein : courbe avant injections.

En pointillé : courbe normale.

Courbe de fragilité osmotique :

La résistance globulaire moyenne à l'hypotonie est de 5,29 g/l. L'hémolyse commence pour une concentration en chlorure de sodium de 7,00 g/l et elle est totale pour 3,00 g/l. La courbe de distribution des hématies, suivant leur résistance globulaire à l'hypotonie, a une base assez large ; elle présente deux maximums, l'un pour 6 g/l et l'autre pour 5 g/l. La plupart des globules rouges s'hémo lysent pour des concentrations de chlorure de sodium comprises entre 7 et 4,50 g/l ; le coefficient de variation est de 10,86 p. 100.

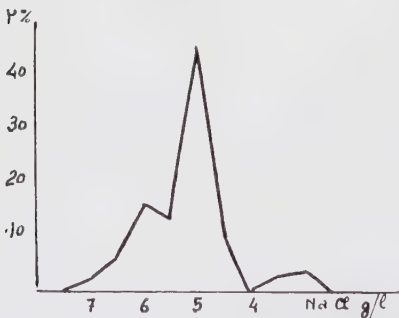


FIG. 53

LAPIN D

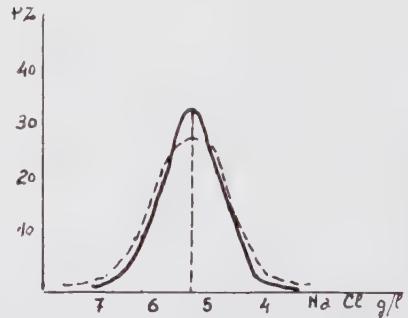


FIG. 54

FIG. 53 — *Courbe de fragilité osmotique.*

FIG. 54 — *Courbes théoriques*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe avant injections.

En possession de tous ces examens nous considérons que l'animal est normal ; nous notons cependant une légère diminution du nombre des hématies et le test de fragilité osmotique révèle une population bimodale.

Nous commençons les injections de solution concentrée de digitonoside suivant le même protocole que précédemment et nous pratiquons sept injections intraveineuses d'un millilitre de solution concentrée chaque fois, afin de vérifier qu'il est toujours possible d'obtenir une diminution de la résistance globulaire avec diminution de l'indice de sphéricité. Après douze jours d'expériences nous décidons de sacrifier l'animal pour nous retrouver dans les conditions d'expériences que nous avions avec le lapin C. (*)

Un essai préliminaire nous indique que le nombre des hématies est augmenté par rapport à ce qu'il était avant injections. Dans ce cas le nouveau bilan nous révélera la sensibilité des examens qui permettent d'établir les courbes de distribution : mesure des diamètres et des résistances globulaires.

L'état général de l'animal reste bon. Son poids est de 3 245 grammes, accusant ainsi une légère augmentation. Nous savons que le gain de poids est inhérent à toute régénération sanguine et qu'il contrebalance la perte de poids successive aux injections intraveineuses de digitonoside.

Un examen complet est pratiqué ; il nous révèle :

Hématies : 5 450 000 ; Hématocrite : 36,0 p. 100 ;

Hémoglobine : 120 g/l (92 p. 100) ;

Valeur globulaire relative : 0,86 ;

Valeur globulaire absolue : 21,9 ; Sidérocytes : 654 000 ;

Réticulocytes : 256 000 ; Hématies à granulations basophiles : 4 900 ;

Leucocytes : 8 670

Plaquettes : 722 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	45,0
Polynucléaires éosinophiles	1,0
Polynucléaires basophiles	6,5
Lymphocytes	39,0
Monocytes	8,5

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,57 microns

Volume globulaire moyen : 66,05 micron-cubes

Concentration globulaire moyenne : 33,3 p. 100

Indice de sphérocytose : 0,44

Courbe de Price-Jones :

Si la courbe expérimentale révèle une légère microcytose, l'examen de la courbe théorique montre mieux la tendance à la macrocytose. Le diamètre moyen est peu augmenté : 6,57 microns. Le coefficient d'anisocytose est de 9,71 p. 100. Les valeurs extrêmes rencontrées sont respectivement 5 et 8,5 microns. La gamme des diamètres ne s'est

(*) N.B. : Voir note page 219.

pas étendue, mais il y a surtout une augmentation des hématies ayant un diamètre de 5 microns et de 7,5 microns avec une diminution consécutive du nombre des hématies ayant 6 et 7 microns.

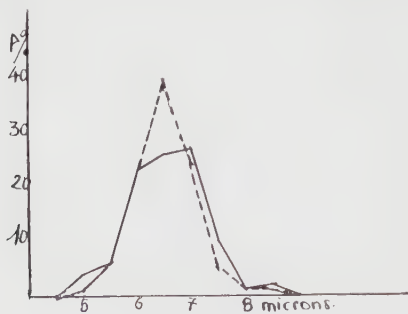


FIG. 55

LAPIN D

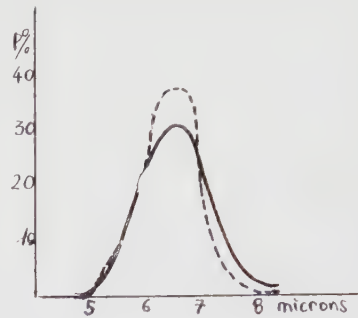


FIG. 56

FIG. 55 — *Courbes diamétrales*FIG. 56 — *Courbes théoriques correspondantes*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe après trois injections..

Courbe de fragilité osmotique :

Cette courbe montre une très grande hétérogénéité de la population érythrocytaire. Déjà, avant injections, la courbe de fragilité osmotique révélait l'existence d'hématies ayant des résistances très différentes ; cette variabilité est encore augmentée sous l'influence du digitonoside. Le coefficient de variation est de 13,66 p. 100. L'hémolyse commence pour une concentration en chlorure de sodium de 8 g/l ; elle est totale pour une concentration de 2,00 g/l ; elle est déjà presque totale à une concentration de 4 g/l.

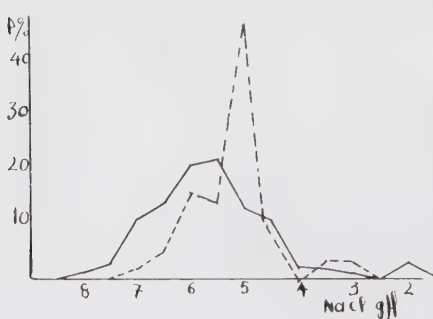


FIG. 57

LAPIN D

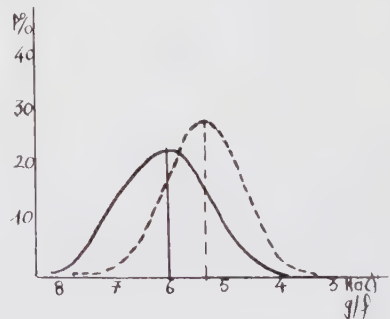


FIG. 58

FIG. 57 — *Courbes de fragilité osmotique*FIG. 58 — *Courbes théoriques.*En pointillé : courbe avant injections (FIG. 57)
et courbe normale (FIG. 58)

En trait plein : courbe après trois injections..

Myélogramme :

Myéloblastes	1,0
Promyélocytes	2,0
Myélocytes neutrophiles	11,0
Myélocytes éosinophiles	2,0
Métamyélocytes neutrophiles	13,0
Polynucléaires neutrophiles	44,0
Polynucléaires éosinophiles	2,5
Lymphocytes	4,5
Monocytes	0,5
Proérythroblastes + Erythroblastes basophiles	2,5
Erythroblastes polychromophiles et orthochr.	17,0

Numération des éléments nucléés de la moelle : 500 000

Autres examens :

Fer sérique : 106 microgrammes pour 100 ml

Cholestérol total : 1,10 g/l

Poids du lapin : 3 245 grammes.

DISCUSSION DES PRINCIPAUX FAITS OBSERVES

Le sérum — Interprétation des taux observés en fer sérique :

Dans les maladies hémolytiques on observe les valeurs les plus élevées de fer sérique dans les périodes d'hémolyse sans régénération sanguine ou avant qu'elle ne se soit manifestée (lapin G). Dans les autres cas, le taux de fer sérique est variable. En effet se contrebalancent l'hypersidérémie due à l'hémolyse et l'hyposidérémie que provoque l'active régénération globulaire (DREYFUS et SCHAPIRA, 52).

Conclusion pour le lapin D :

Le taux relativement bas de 106 microgrammes pour 100 ml de sérum, que nous observons, nous laisse supposer une hyperplasie médullaire, conséquence de l'active régénération globulaire.

La lignée plaquettaire :

L'étude des plaquettes montre une nette augmentation soulignant, comme pour le lapin C, la régénération des hématies et l'arrêt des pertes par hémorragies internes qui sont responsables du décalage apparent de régénération des deux lignées.

La lignée rouge :

Nous pensons que le nombre important des hématies s'explique par une exagération de l'érythrodiabase, confirmée par une légère diminution des éléments nucléés de la moelle osseuse.

La présence d'éléments jeunes dans le sang périphérique est soulignée par la déviation de la courbe diamétrale vers les grands diamètres et par la résistance globulaire à l'hypotonie augmentée pour

certaines éléments qui ne sont détruits que pour une concentration de 1.50 g l de chlorure de sodium. L'augmentation du taux des réticulocytes confirme cette interprétation.

Nous notons aussi une forte proportion d'éléments âgés qui ont résisté à l'action du digitonoside, du fait de leur protection par le cholestérol dont le taux est très augmenté ; leur existence est révélée par l'examen des courbes de distribution : mise en évidence d'hématies de 5 microns et d'érythrocytes détruits à des concentrations de 8,00 g/l de chlorure de sodium.

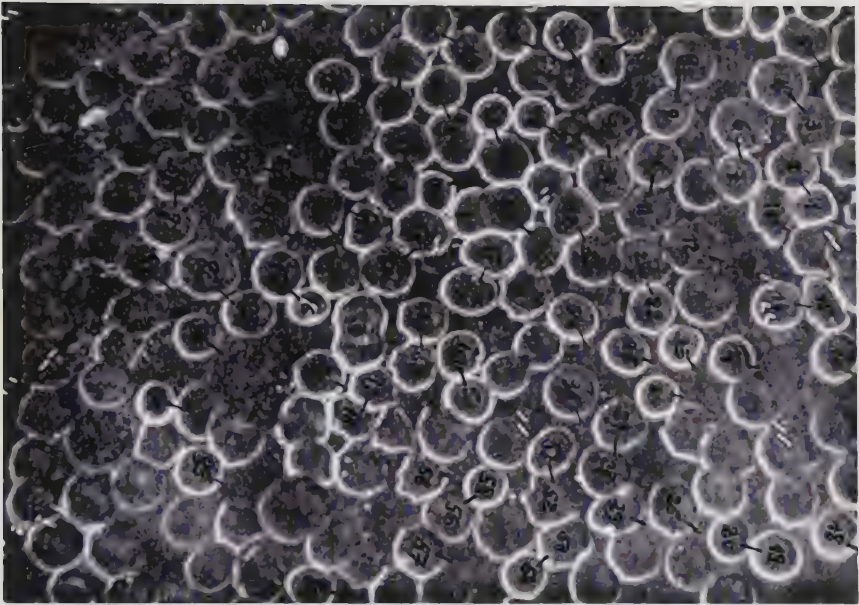
En conclusion, comme l'indice de sphéricité est diminué, il n'y a pas d'hématies en position préhémolytique et la macrocytose révèle seulement la présence des réticulocytes. La diminution de la résistance à l'hypotonie est fonction de la proportion d'hématies âgées qui ont résisté à l'action du digitonoside.

La moelle osseuse — hyperplasie dissimulée :

Le nombre des éléments nucléés de la moelle osseuse est de 500 000 éléments par millimètre cube ; il est un peu inférieur à la moyenne normale de 570 000 éléments, malgré les indices d'hyperplasie médullaire : augmentation du poids de l'animal, taux relativement bas du fer sérique et thrombocytose élevée.

Nous admettons que l'hypertrophie fonctionnelle est réelle, mais inapparente au moment du sacrifice de l'animal et nous l'expliquons par une exagération de l'érythrodiabase qui est responsable de la polyglobulie du sang périphérique, de la présence d'éléments très jeunes détruits seulement à des concentrations de 2.00 g l de chlorure de sodium et de la diminution du pourcentage d'érythroblastes de la moelle osseuse.

Nous justifions notre raisonnement précédent par la constatation suivante : le lapin D est le seul animal qui présente au cours de notre expérimentation une augmentation du nombre des éléments de toutes les lignées à la fois : plaquettaire, leucocytaire et érythrocytaire et nous pensons que la moelle vient de se vider d'une partie de ses éléments. Nous concluons en conséquence que l'hyperplasie est réelle, mais dissimulée à nos yeux provisoirement.



*ETUDE DES DIAMETRES DU LAPIN D
après trois injections de solution concentrée de Digitonoside*



*ETUDE DES DIAMETRES ERYTHROCYTAIRES DU LAPIN D
après trois injections de solution concentrée de Digitonoside*

Au centre de la microphotographie, remarquer le lymphocyte de surface $S = 198 \text{ mm}^2$ correspondant à un diamètre de 12.3 microns.

**MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « D »
APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE
DE DIGITONOSIDE.**

1^{re} colonne : numéro de l'hématie.

2^e colonne : surface lue en mm², en parcourant deux fois le tour de l'hématie par planimétrie.

TABLEAU 92

1	83	26	92	51	103	76	63
	110		127		137		91
	124		135		125		89
	146		109		87		115
5	127	30	120	55	80	80	91
	154		151		127		198
	110		119		130		170
	117		137		102		119
	150		105		102		92
10	123	35	137	60	106	85	112
	130		96		136		147
	156		81		134		123
	116		95		71		134
	114		101		155		130
15	103	40	66	65	103	90	65
	107		134		127		110
	91		64		120		132
	103		115		90		153
	110		145		135		127
20	92	45	146	70	129	95	109
	148		113		135		102
	108		117		90		115
	77		117		122		103
	74		100		83		116
25	137	50	95	75	124	100	109

Surface totale mesurée : 11 495 mm².

Surface totale d'une hématie : 57,47 mm², ce qui correspond à un diamètre de 6,58 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
48,0 à 60,0	4,5	0
60,0 à 73,0	5	4
73,0 à 87,6	5,5	7
87,6 à 103,6	6	23
103,6 à 120,8	6,5	26
120,8 à 139,4	7	27
139,4 à 159,4	7,5	11
159,4 à 180,6	8	1
180,6 à 203,2	8,5	1
203,2 à 227,0	9	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU
LAPIN « D », APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABEAU 93

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
5	4	— 3	— 12	36
5,5	7	— 2	— 14	28
6	23	— 1	— 23	23
6,5	26	0	0	0
7	27	+ 1	+ 27	27
7,5	11	+ 2	+ 22	24
8	1	+ 3	+ 3	9
8,5	1	+ 4	+ 4	16
Total	100		+ 7	163

Résultats en données abrégées

Moyenne : $7 / 100 = 0,07$

Terme C : $49 / 100 = 0,49$

Somme des carrés :

$163 - 0,49 \cdot 163$

Variance : $163 / 99 = 1,63$

Résultats en données originales

Moyenne :

$6,5 + (0,07 \times 0,5) = 6,53$

Variance : $1,63 \times (0,5)^2 = 0,407$

Ecart type = $\sqrt{0,407} = 0,638$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE,
APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE
DE DIGITONOSIDE. LAPIN « D ».

TABEAU 94

Données expérimentales			Equation de la courbe théorique	
m = 6,53			P % = 78,37 f (t)	
s = 0,638			t = 1,56 (x — 6,53)	
1/s = 1,5674			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-t^2}$	
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,53)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8,5	1,97	3,0732	0,0036	0,28
8	1,47	2,2932	0,0290	2,27
7,5	0,97	1,5132	0,1276	10,00
7	0,47	0,7332	0,3056	23,94
6,53	0	0	0,3989	31,26

ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE DES
HEMATIES DU LAPIN « D », APRES TROIS INJECTIONS DE
SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABEAU 95

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
8	1,6	+ 5	+ 8,0	40,0
7,5	2,6	+ 4	+ 10,4	41,6
7	9,6	+ 3	+ 28,8	86,4
6,5	13,5	+ 2	+ 27,0	54,0
6	20,9	+ 1	+ 20,9	20,9
5,5	21,9	0	—	—
5	13,8	— 1	— 13,8	13,8
4,5	10,0	— 2	— 20,0	40,0
4	1,9	— 3	— 5,7	17,1
3,5	1,3	— 4	— 5,2	20,8
3	1,0	— 5	— 5,0	25,0
2,5	0	— 6	—	—
2	1,3	— 7	— 9,1	63,7
1,5	0,6	— 8	— 4,8	38,4
Total	100,0		+ 31,5	461,7

Résultats en données abrégées

Moyenne $31,5 / 100 = 0,31$

Terme C : $(31,5)^2 / 100 = 9,92$

Somme des carrés :

$$461,7 - 9,9 = 451$$

Variance : $451 / 99 = 4,51$

Résultats en données originales

Moyenne :

$$5,5 + (0,31 \times 0,5) = 5,65$$

Variance : $4,51 \times (0,5)^2 = 1,12$

Ecart type : $\sqrt{1,12} = 1,06$

ETUDE STATISTIQUE DE LA PREMIERE POPULATION D'HEMATIES, DETERMINEE PAR LE TEST DE RESISTANCE A L'HYPOTONIE, APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « D ».

TABLEAU 96

NaCl g/l	Fréquence f.	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
8	1,6	+ 5	+ 8,0	40,0
7,5	2,6	+ 4	+ 10,4	41,6
7	9,6	+ 3	+ 28,8	86,4
6,5	13,5	+ 2	+ 27,0	54,0
6	20,9	+ 1	+ 20,9	20,9
5,5	21,9	0	0	0
5	13,8	— 1	— 13,8	13,8
4,5	10,0	— 2	— 20,0	20,0
4	1,9	— 3	— 5,7	17,1
Total	95,8		+ 55,6	293,8

Résultats en données abrégées

Moyenne : $55,6 / 95,8 = 0,58$

Terme C : $(55,6)^2 / 95,8 = 32,27$

Somme des carrés :

$293,8 - 32,27 = 262$

Variance : $262 / 94,8 = 2,76$

Résultats en données originales

Moyenne :

$5,50 + (0,58 \times 0,5) = 5,79$

Variance : $2,76 \times (0,5)^2 = 0,69$

Ecart type : $\sqrt{0,69} = 0,83$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESISTANCE A L'HYPOTONIE, APRES TROIS INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « D ».

TABLEAU 97

<i>Données expérimentales</i>			<i>Equation de la courbe</i>	
m = 5,79			P % = 60,17 f (t)	
s = 0,83			t = 1,20 (x — 5,79)	
1/s = 1,2034			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 5,79)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8,00	2,21	2,652	0,0119	0,71
7,50	1,71	2,052	0,0488	2,93
7,00	1,21	1,452	0,1394	8,38
6,50	0,71	0,852	0,2780	16,72
6,00	0,21	0,252	0,3867	23,26
5,79	0	0	0,3989	24,00

CHAPITRE X

L'expérimentation du second groupe a duré respectivement soixante et quatre vingts jours, au cours desquels le lapin J reçoit vingt-deux injections et le lapin B reçoit vingt-cinq injections de deux millilitres de solution concentrée de digitonoside.

L'intoxication provoquée est caractérisée :

- 1) par une légère augmentation de la résistance globulaire moyenne à l'hypotonie ;
- 2) par un diamètre moyen de valeur normale.

L'examen du second groupe d'animaux sera pour nous la raison d'étudier :

— à propos du lapin J :

un cas de thrombose,
un cas d'hypochromie,
les hématies à granulations basophiles,
les sidéroblastes et le fer extraérythroblastique.

— à propos du lapin B :

l'anisocytose provoquée par un phénomène de bipartition.

Cinquième observation : lapin J

L'animal est de constitution normale. On note un poids de 2 985 grammes. Depuis sa naissance, il n'a jamais eu de maladies infectieuses.

L'examen hématologique, pratiqué avant toute injection, révèle :
Sang périphérique :

Globules rouges : 6 200 000 ; hématocrite : 44,5 p. 100 ;
Hémoglobine : 139 g/l (106 p. 100) ;
Valeur globulaire relative : 0,87 ;
Valeur globulaire absolue : 22,2 ;
Réticulocytes : 2,5 p. 100 (155 000) ;
Hématies à granulations basophiles : 1 p. 100 (soit 62 000).
Leucocytes : 5 290
Plaquettes : 323 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	32,0
Polynucléaires éosinophiles	1,5
Polynucléaires basophiles	1,0
Lymphocytes	64,5
Monocytes	1,0

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,58 microns

Volume globulaire moyen : 71,77 micron-cubes

Concentration globulaire moyenne : 31,2 p. 100.

Indice de sphérocytose : 0,48

Courbe de Price-Jones :

La courbe diamétrale révèle une population absolument normale ; la valeur dominante est de 6,50 microns et les globules rouges ont un diamètre compris entre 5,5 et 7,5 microns. L'anisocytose est de 5,88 p. 100, indice marquant l'homogénéité de la population.

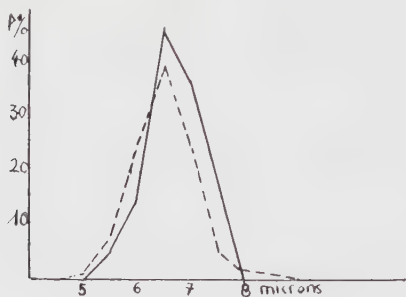


FIG. 59

LAPIN J

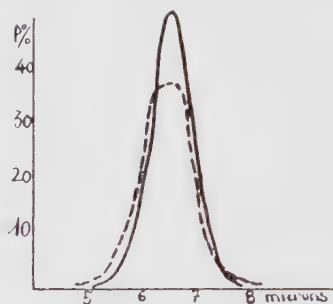


FIG. 60

FIG. 59 — *Courbes diamétrales*

FIG. 60 — *Courbes théoriques correspondantes*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe avant injections.

Courbe de fragilité osmotique :

L'examen des courbes théoriques montre que la population a une résistance moyenne légèrement supérieure à la normale (5 g/l au lieu de 5,30 g/l). L'hémolyse commence à 6 g/l de Na Cl et elle est totale à 3,50 g/l. Le coefficient de variation est de 10,47 p. 100.

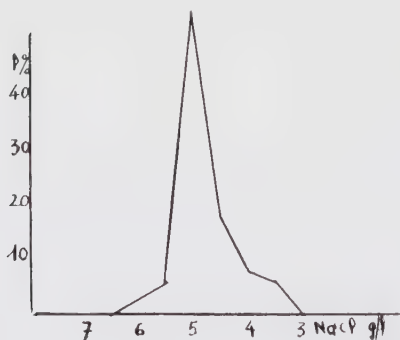


FIG. 61

LAPIN J

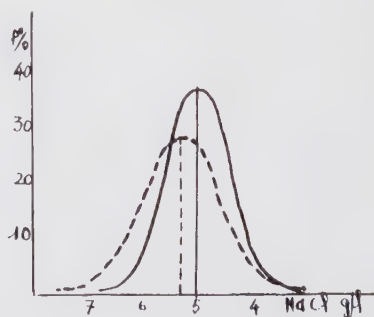


FIG. 62

FIG. 61 — *Courbes de fragilité osmotique*

FIG. 62 — *Courbes théoriques*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe avant injections.

En possession de tous ces examens nous considérons que l'animal est normal et nous injectons, environ tous les trois jours, 2 millilitres de solution concentrée de digitonoside. Après une intoxication de quinze jours, nous notons un taux d'hémoglobine de 93 g/l. Au dix-septième jour, l'oreille est rouge et œdématisée par suite d'une thrombose. Nous rappelons que les saponines ont une action sur la coagulation du sang et qu'HAUBRICH (76) a montré que, si des doses moyennes et grandes de saponine inhibent la coagulation du sang et du plasma ainsi que la rétraction du caillot, au contraire de petites doses de saponine, comme nous les employons, augmentent la coagulabilité et la vitesse de rétraction du caillot. Cet effet des petites doses serait dû, d'après l'auteur cité, à l'augmentation de la surface catalytique engendrée par la destruction des érythrocytes et à une résistance diminuée durant la rétraction, causée par la diminution du nombre des érythrocytes.

Nous savons que les plaquettes fournissent plusieurs facteurs actifs dans le mécanisme hémostatique et STEFANINI et coll. (141) ont isolé un facteur thrombosplastique après désintégration des plaquettes. Nous savons aussi que la destruction des thrombocytes par la saponine est importante et que BUNTING abaisse le nombre de ces éléments de 800 000 à environ 100 000 par une seule injection intraveineuse de 4 à 5 mg de saponine. Cette désintégration plaquettaire « *in vivo* » met donc en circulation une quantité importante de facteurs de la coagulation.

Enfin DREYFUS (50) rapporte que l'agglutination des hématies en voie d'hémolyse ou le simple agglomérat des stromas d'érythrocytes détruits ont été tenus pour responsables de thromboses.

À la suite de ces accidents vasculaires, l'animal perd une partie de l'oreille atteinte. Nous continuons les injections dans les vaisseaux de la région fémorale et nous suivons, comme par le passé, par des dosages d'hémoglobine, l'évolution de l'intoxication provoquée.

Après soixante-cinq jours, au cours desquels vingt-deux injections de solution concentrée de digitonoside ont été faites, nous décidons de sacrifier l'animal.

Un examen complet est pratiqué et il nous révèle :

Hématies : 5 870 000 ; Hématocrite : 37,0 p. 100 ;
Hémoglobine : 108 g/l (83 p. 100) ;
Valeur globulaire relative : 0,72 ;
Valeur globulaire absolue : 18,4 ; Sidérocytes : 563 000 ;
Réticulocytes : 8,0 p. 100 (soit 469 000) ;
Hématies à granulations basophiles : 3,1 p. 100 (soit 182 000) ;
Leucocytes : 7 330
Plaquettes : 737 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	62,0
Polynucléaires éosinophiles	1,0
Polynucléaires basophiles	4,5
Lymphocytes	30,0
Monocytes	2,5

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,38 microns

Volume globulaire moyen : 63,03 micron-cubes

Concentration globulaire moyenne : 29,1 p. 100

Indice de sphérocytose : 0,46

Courbe de Price-Jones :

La courbe montre une déviation vers les petits diamètres avec une augmentation de l'anisocytose. Le mode est toujours égal à 6,5 microns : nous constatons une diminution nette du nombre des hématies de 7,5 microns et l'apparition de microcytose et même de schizocytose avec des globules de 3,5 microns. Le diamètre moyen est légèrement diminué avec une valeur de 6,38 microns, mais il reste dans les limites normales. La courbe expérimentale révèle une base très large avec 9,26 p. 100 d'anisocytose.

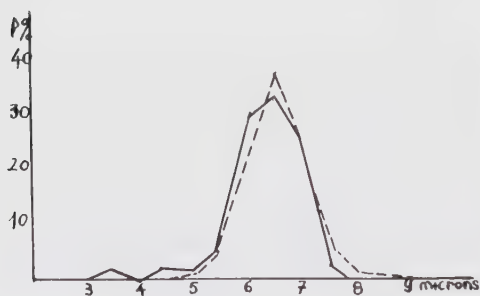


FIG. 63

LAPIN J

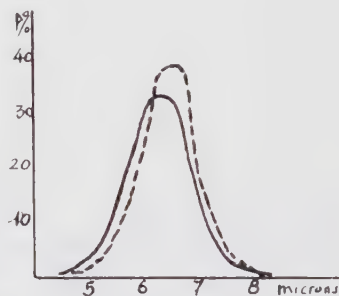


FIG. 64

FIG. 63 — *Courbes diamétrales*

FIG. 64 — *Courbes théoriques correspondantes.*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe après vingt-deux injections.

Courbe de fragilité osmotique :

La courbe est déviée vers la droite et la résistance moyenne des hématies est augmentée et égale à 4,60 g/l, valeur exprimée en chlorure de sodium ; l'hémolyse commence pour une concentration en chlorure de sodium de 6 g/l et elle est totale pour une concentration de 2,50 g/l. Le coefficient de variation est de 15,65 p. 100.

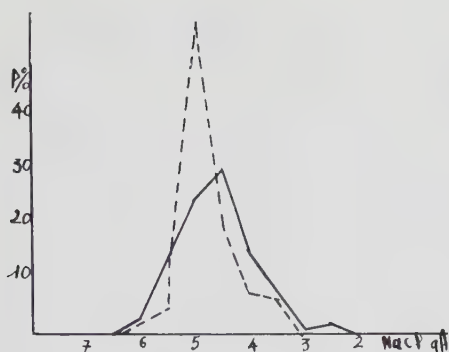


FIG. 65

LAPIN J

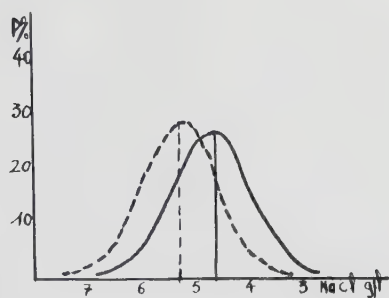


FIG. 66

FIG. 65 — *Courbes de fragilité osmotique*

FIG. 66 — *Courbes théoriques correspondantes*

En trait plein : courbe après vingt-deux injections.

En pointillé : courbe avant injections.

Myélogramme :

Myéloblastes	0,0
Promyélocytes	2,0
Myélocytes neutrophiles	6,0
Myélocytes éosinophiles	1,0
Métamyélocytes neutrophiles	12,0
Polynucléaires neutrophiles	35,0
Polynucléaires éosinophiles	0,0
Lymphocytes	16,0
Monocytes	1,0
Proérythroblastes + Erythroblastes basophiles	5,0
Erythroblastes polychromatophiles et orthochr.	22,0

Numération des éléments nucléés de la moelle : 806 000

Sidéroblastes : 21 000

Autres examens :

Urée : 0,50 g/l

Fer sérique : 163 microgrammes pour 100 ml

Cholestérol total : 1,10 g/l

DISCUSSION DES PRINCIPAUX FAITS OBSERVES

Le sérum :

Nous constatons un taux de cholestérol total élevé et nous observons que le taux de fer sérique atteint 163 microgrammes pour 100 ml.

La lignée plaquettaire :

Nous notons une hyperplaquettose associée à une légère leucocytose, comme dans l'étude du lapin D. Ce sont des signes importants pour la compréhension de la réaction de la moelle.

La lignée rouge :

Nous remarquons une légère diminution des érythrocytes dont le nombre est néanmoins supérieur à la valeur moyenne des lapins normaux : nous notons de la microcytose et de la schizocytose, microcytose corroborée par un volume globulaire moyen de 63 microns-cubes, le plus faible que nous ayons observé. L'animal étudié nous offre le seul exemple d'hypochromie rencontrée, avec une valeur globulaire de 0,72. Rappelons que nous avons admis qu'une anémie est hypochrome au-dessous d'une valeur globulaire relative de 0,83. L'hypochromie est confirmée par une faible concentration globulaire moyenne de 29 p. 100.

Nous pensons que l'hypochromie est due à une insuffisance transitoire de la synthèse hémoglobinique, soulignée par la microcytose que l'on considère actuellement comme un stigmate habituel des anémies hypochromes (51).

Nous savons que l'administration de fer supprime la microcytose, comme l'a précisé PRICE-JONES (129) et la quantité importante de fer sérique, qui atteint une valeur voisine de celle que nous avons trouvée en étudiant le lapin G, nous laisse supposer que ce fer est momentanément inemployé, en attendant la reprise d'un travail actif de la moelle osseuse. L'étude des examens hématologiques du lapin suivant (B), qui a reçu sensiblement la même quantité de digitonose, confirme notre hypothèse, puisque la valeur globulaire redevient normale.

Hématies à granulations basophiles :

Nous constatons un nombre important d'hématies à granulations basophiles : 182 000 par millimètre cube.

Chez un animal normal nous obtenons habituellement une moyenne de 26 000 hématies ponctuées par millimètre cube avec des variations de 3 000 à 62 000. ALBAHARY (1) précise que leur nombre est très influencé par le terrain individuel et que c'est un meilleur test qualificatif que quantitatif.

Au cours de notre expérimentation, les hématies à granulations basophiles évoluent toujours dans des limites normales, exception

faite pour les animaux de ce groupe. Nous trouvons, en effet, un nombre élevé de ces éléments chez le lapin B, que nous étudierons ensuite, avec 164 000 hématies ponctuées par millimètre cube.

Parallèlement nous constatons dans ce groupe une microcytose et une macrocytose importantes, responsables d'un coefficient d'anisocytose élevé et d'un diamètre moyen de valeur normale.

NÆGELI (112) estime que leur présence montre une réaction embryonnaire ou pathologique de la moelle, constituant un signe clinique d'une régénération morbide. Dans notre cas, nous constatons que leur présence coïncide avec le phénomène de partition intravasculaire des hématies que nous examinerons sur microphotographies en étudiant le lapin B.

Moelle :

Eléments nucléés :

Nous dénombrons 806 000 éléments par millimètre cube, bien que l'hyperplaquetose et une étude comparative avec les autres animaux nous permettent de déduire une hyperplasie médullaire plus importante ; le lapin précédent (C) avait 1 355 000 éléments nucléés par millimètre cube et, avec le lapin B que nous étudions ensuite, nous dénombrons 1 260 000 éléments.

Nous pensons que l'hypertrophie fonctionnelle est réelle, mais en partie dissimulée au moment du sacrifice de l'animal ; nous suivons un raisonnement analogue à celui que nous avons fait en étudiant le lapin D.

Nous observons en effet une leucocytose associée à une thrombocytose, avec seulement une légère diminution des érythrocytes, et nous pensons que la moelle vient d'émettre une partie de ses éléments, responsables de l'augmentation de la résistance globulaire à l'hypotonie et du grand nombre d'éléments des trois lignées que nous rencontrons dans le sang périphérique.

Sidéroblastes :

Au nombre très faible de sidéroblastes de 21 000 éléments par millimètre cube de la moelle osseuse correspond un taux de fer sérique élevé de 163 microgrammes pour 100 ml ; c'est la preuve de l'équilibre dynamique qui existe entre le fer ferritique et le fer plasmatique, comme nous l'avons déjà précisé en étudiant le lapin G.

Nous constatons au microscope optique que le pourcentage de sidéroblastes est de 10 p. 100 et que c'est le plus faible trouvé au cours de notre expérimentation. BESSIS et coll. (15, 16, 17) ont montré par le microscope électronique que tous les érythroblastes normaux étaient des sidéroblastes, mais que les amas de grains, qui ont des dimensions plus petites qu'un quart de micron, sont invisibles au microscope optique et qu'ils apparaissent nettement dans presque toutes les cellules examinées au microscope électronique.

Ces auteurs constatent que chez un individu normal il existe des molécules de ferritine dispersées dans tout le cytoplasme du proérythroblaste et qu'à ce stade il n'y a pas d'amas ; ils ont montré que dans

les érythroblastes plus âgés, la ferritine est groupée en un ou deux amas suffisamment gros pour être vus au microscope optique, après coloration spécifique.

Nous en concluons que la moelle osseuse du lapin J est à une phase de renouvellement et que tous les éléments nucléés, qui restent, sont jeunes dans l'ensemble et n'ont pas de granulations visibles au microscope optique.

Les éléments les plus vieux ont quitté la moelle, provoquant dans le sang périphérique une hyperplaquettose, associée à une légère leucocytose et à une érythrocytémie voisine de celle qui existait avant les injections.

C'est pour nous une preuve du phénomène périodique qui libère les éléments du sang périphérique, à partir de la moelle, et qui explique les courbes de régénération sanguine, avec leurs maximums et leurs minimums, que nous avons étudiées.

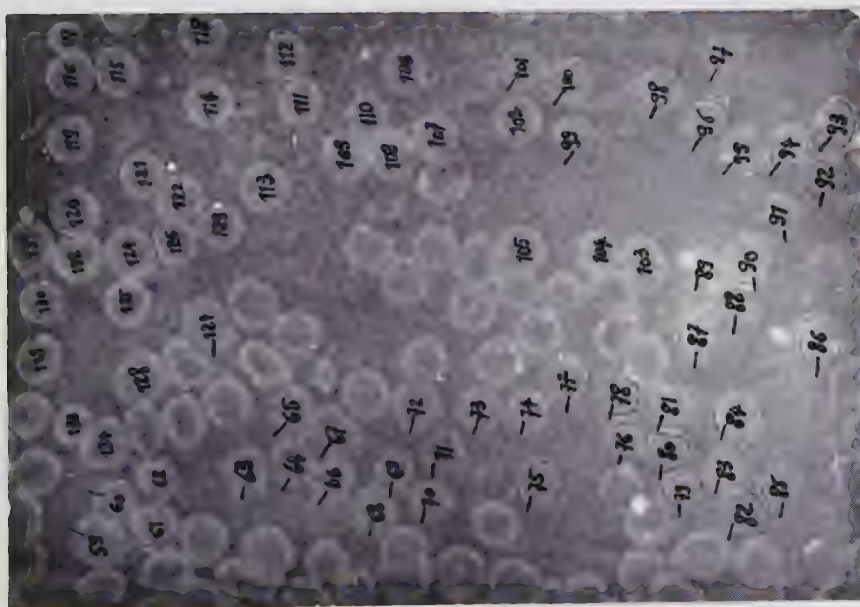
La moelle se remplit et se vide de ses éléments nucléés par un phénomène rythmique (49 bis) que nous comparons à celui des poumons ou du cœur. Nous comprenons pourquoi la moelle des lapins J et D semble en hypoplasie transitoire alors que nous observons les signes extérieurs d'hyperplasie.

Fer extraérythroblastique :

Nous observons que le fer extraérythroblastique est diminué, comme nous le constatons sur toutes les autres lames. BESSIS et coll. (17) ont montré que le fer extracellulaire provient des lambeaux cytoplasmiques des cellules réticulaires de la moelle osseuse et que ces dernières sont bourrées d'hémossidérine et de ferritine à la suite d'une intense phagocytose d'érythrocytes. Nous pensons que la diminution du fer extraérythroblastique que nous constatons chez nos animaux à la suite de l'intoxication par le digitonoside est une conséquence de la phagocytose des érythrocytes qui n'a pas lieu dans la moelle puisque les hématies sont détruites directement dans le sang périphérique.



LAPIN J



ETUDE DES DIAMETRES DU LAPIN « J »
APRES VINGT-DEUX INJECTIONS

MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « J »
APRES VINGT-DEUX INJECTIONS DE SOLUTION CONCEN-
TREE DE DIGITONOSIDE.

1^{re} colonne : numéro des hématies.

2^e colonne : surface des hématies en mm² en parcourant deux
fois le tour de l'hématie par planimétrie.

TABLEAU 98

1	121	26	34	51	102	76	93
	101		81		111		122
	100		128		128		114
	124		97		55		82
5	108	30	119	55	93	80	100
	119		125		91		113
	111		127		119		124
	129		119		119		91
	114		94		114		145
10	105	35	137	60	81	85	123
	133		115		106		137
	119		134		70		122
	112		128		106		93
	100		101		102		126
15	127	40	121	65	115	90	139
	101		132		89		106
	107		129		117		109
	103		114		87		96
	102		96		96		97
20	122	45	115	70	84	95	107
	131		109		91		118
	99		94		107		95
	110		146		99		109
	137		127		102		90
25	109	50	111	75	104	100	93

Surface totale mesurée : 10 909 mm² (planimétrie en parcourant
deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 54,54 mm², ce qui correspond à
un diamètre de 6,41 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
20,0 à 28,0	3	0
28,0 à 37,4	3,5	1
37,4 à 48,0	4	0
48,0 à 60,0	4,5	1
60,0 à 73,0	5	1
73,0 à 87,6	5,5	5
87,6 à 103,6	6	30
103,6 à 120,8	6,5	34
120,8 à 139,4	7	26
139,4 à 159,4	7,5	2
159,4 à 180,6	8	0
180,6 à 203,2	8,5	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU
LAPIN « J », APRES VINGT-DEUX INJECTIONS DE SOLU-
TION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABEAU 99

Diametres mesurés en microns	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
3	0			
3,5	1	— 5	— 5	25
4	0	— 4	0	0
4,5	1	— 3	— 3	9
5	1	— 2	— 2	4
5,5	5	— 1	— 5	5
6	30	0	0	0
6,5	34	+ 1	+ 34	34
7	26	+ 2	+ 52	104
7,5	2	+ 3	+ 6	18
8	0			
Total	100		+ 77	199

Résultats en données abrégées

Moyenne : $77 / 100 = 0,77$

Terme C : $(77)^2 / 100 = 59,29$

Somme des carrés :

$199 - 59,29 \neq 140$

Variance : $140 / 99 = 1,40$

Résultats en données originales

Moyenne :

$6 + (0,77 \times 0,5) = 6,38$

Variance : $1,40 \times (0,5)^2 = 0,35$

Ecart type : $\sqrt{0,35} = 0,591$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE
APRES VINGT-DEUX INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE
DE DIGITONOSIDE. LAPIN « J ».

TABEAU 100

Données expérimentales		Equation de la courbe		
m = 6,38		P % = 84,6 f (t)		
s = 0,591		t = 1,69 (x — 6,38)		
1/s = 1,692		f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,38)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8	1,62	2,7378	0,0096	0,81
7,50	1,12	1,8928	0,0669	5,66
7	0,62	1,0478	0,2323	19,65
6,50	0,12	0,2028	0,3910	33,07
6,38	0	0	0,3989	33,74

ETUDE STATISTIQUE DE LA PREMIERE POPULATION D'HEMATIES, DETERMINEE PAR LE TEST DE RESISTANCE A L'HYPOTONIE, APRES VINGT-DEUX INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « J ».

TABLEAU 101

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
6,5	0			
6	3,5	+ 4	+ 14,0	56,0
5,5	14,5	+ 3	+ 43,5	130,5
5	25,0	+ 2	+ 50,0	100,0
4,5	30,5	+ 1	+ 30,5	30,5
4	16,0	0	0	0
3,5	6,0	— 1	— 6,0	6,0
3	2,0	— 2	— 4,0	8,0
2,5	2,5	— 3	— 7,5	22,5
Total	100,0		+ 120,5	353,5

*Résultats en données abrégées*Moyenne : $120,5 / 100 = 1,20$ Terme C : $(120,5)^2 / 100 = 145,2$

Somme des carrés :

$$353,5 - 145,2 = 208$$

Variance : $208 / 99 = 2,08$ *Résultats en données originales*

Moyenne :

$$4 + (1,20 \times 0,5) = 4,60$$

Variance : $2,08 \times (0,5)^2 = 0,52$ Ecart type : $\sqrt{0,52} = 0,72$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESISTANCE A L'HYPOTONIE, APRES VINGT-DEUX INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « J ».

TABLEAU 102

<i>Données expérimentales</i>			<i>Equation de la courbe</i>	
m = 4,60			P % = 69,44 f (t)	
s = 0,72			t = 1,39 (x — 4,60)	
l / s = 1.3889			$f(t) = 1 - \sqrt{2\pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 4,60)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
6,50	1,90	2,641	0,0122	0,84
6	1,40	1,946	0,0608	4,22
5,50	0,90	1,251	0,1827	12,68
5	0,40	0,556	0,3429	23,81
4,60	0	0	0,3989	27,70

CHAPITRE XI

Sixième observation — lapin B

L'animal semble de constitution normale. Nous notons un poids de 2 400 grammes. Suivi depuis sa naissance, il n'a jamais eu de maladies infectieuses.

L'examen hématologique, pratiqué avant toute injection, montre :

Le sang périphérique :

Hématies : 5 080 000 ; Hématocrite : 44 p. 100 ;
Hémoglobine : 150 g/l (115 p. 100) ;
Valeur globulaire relative : 1,15 ;
Valeur globulaire absolue : 29,3 ; Sidérocytes : 81 280 ;
Réticulocytes : 3,2 p. 100 (soit 162 000) ; Hématies à granulations basophiles : 0,5 p. 100 (soit 25 000) ;
Leucocytes : 6 090
Plaquettes : 380 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	49,5
Polynucléaires éosinophiles	1,0
Polynucléaires basophiles	0,5
Lymphocytes	49,0
Monocytes	0,0

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,45
Volume globulaire moyen : 86,6 micron-cubes
Concentration globulaire moyenne : 34 p. 100
Indice de sphérocytose : 0,61

Courbe de Price-Jones :

La courbe diamétrale a une base étroite ; l'anisocytose est à 7,44 p. 100 ; le plus petit érythrocyte a un diamètre de 5 microns et le plus grand de 7,5 microns. 42 p. 100 des hématies mesurent 6,5 microns.

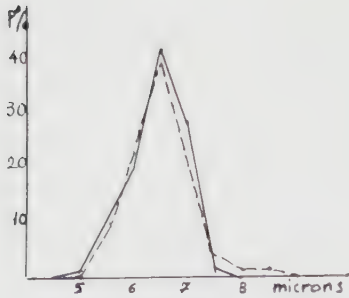


FIG. 67

LAPIN B

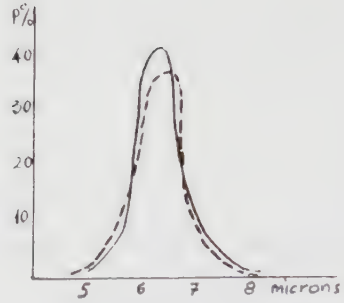


FIG. 68

FIG. 67 — *Courbes diamétrales*FIG. 68 — *Courbes théoriques correspondantes*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe avant injections.

Courbe de fragilité osmotique :

La courbe de distribution des hématies suivant leur résistance globulaire est normale avec un coefficient de variation de 10.9 p. 100. 42 p. 100 des hématies sont hémolysées pour une concentration en chlorure de sodium de 5 g l. L'hémolyse commence pour une concentration de 6 g l et elle est totale pour une concentration de 3.5 g l. La résistance moyenne est de 5.10 g l.

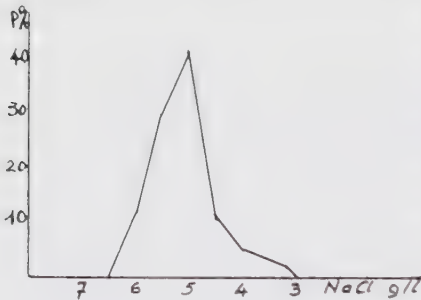


FIG. 69

LAPIN B

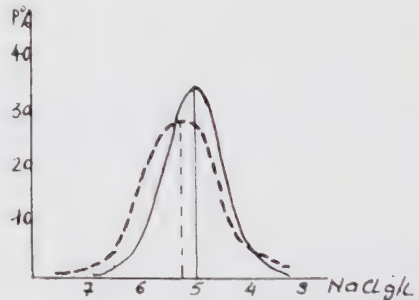


FIG. 70

FIG. 69 — *Courbe de fragilité osmotique*FIG. 70 — *Courbes théoriques*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe avant injections.

En possession de tous ces examens nous considérons que l'animal est normal et nous commençons les injections de solution concentrée de digitonoside.

Pendant les quatre-vingt jours d'expériences, nous suivons l'évolution de l'anémie provoquée par des dosages quotidiens d'hémoglo-

bine (page 194, fig. 33). La courbe établie nous montre une succession de maximums et de minimums qui sont marqués chaque fois, par une diminution de la différence entre les deux chiffres.

Nous décidons de sacrifier l'animal le lendemain de la vingt-cinquième injection. Nous notons un peu d'asthénie et d'anorexie ; l'animal n'a pas maigri et accuse une augmentation de poids de 445 grammes.

Les examens révèlent :

Sang périphérique :

Hématies : 4 700 000 ; Hématocrite : 31,5 p. 100 ;

Hémoglobine : 108 g/l (83 p. 100) ;

Valeur globulaire relative : 0,90 ;

Valeur globulaire absolue : 22,9 ; Sidérocytes : 611 000 ;

Réticulocytes : 6,4 p. 100 (soit 300 000) ; Hématies à granulations basophiles : 3,5 p. 100 (soit 164 000).

Leucocytes : 8 270

Plaquettes : 362 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	26,5
Polynucléaires éosinophiles	1,0
Polynucléaires basophiles	3,5
Lymphocytes	67,0
Monocytes	2,0

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,35 microns

Volume globulaire moyen : 67 micron-cubes

Concentration globulaire moyenne : 34,2 p. 100

Indice de sphérocytose : 0,50

Courbe de Price-Jones :

La courbe de Price-Jones montre une anisocytose très importante avec un coefficient de 15,9 p. 100. Le diamètre moyen est légèrement diminué avec une valeur de 6,35 microns, mais il reste dans les limites de la normale. Nous constatons la présence simultanée de macrocytes et de microcytes en proportion égale, soit 13 p. 100 de macrocytes, 12 p. 100 de microcytes et 1 p. 100 de schizocytes.

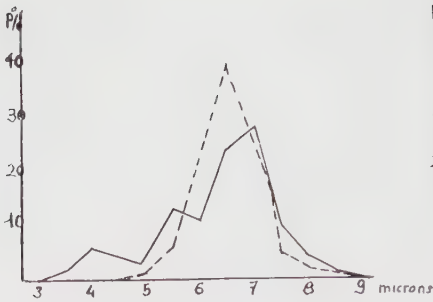


FIG. 71

LAPIN B

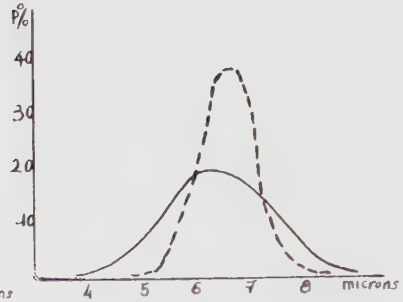


FIG. 72

FIG. 71 — *Courbes diamétrales*FIG. 72 — *Courbes théoriques correspondantes*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe après vingt-cinq injections.

Courbe de fragilité osmotique :

La courbe de fragilité osmotique présente le même aspect caractéristique que la courbe diamétrale. Le coefficient de variation atteint la valeur de 24,27 p. 100. La résistance moyenne des hématies est un peu augmentée, mais elle reste dans les limites normales ; elle est égale à 4,86 g/l, valeur exprimée en chlorure de sodium.

L'hémolyse commence pour une concentration en chlorure de sodium de 7,50 g/l et elle est totale pour une concentration de 2 g/l.

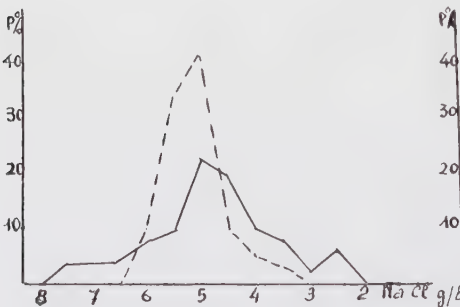


FIG. 73

LAPIN B

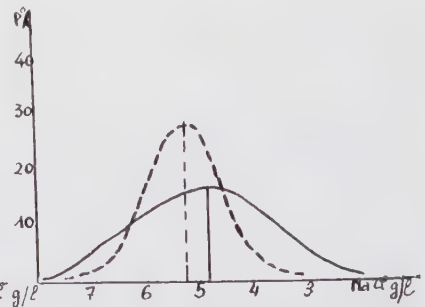


FIG. 74

FIG. 73 — *Courbes de fragilité osmotique*FIG. 74 — *Courbes théoriques correspondantes.*

En pointillé : courbe avant injections.

En trait plein : courbe après vingt-cinq injections.

Myélogramme :

Myéloblastes	4,0
Promyélocytes	2,5
Myélocytes neutrophiles	15,5
Myélocytes éosinophiles	0,5
Métamyélocytes neutrophiles	13,5
Polynucléaires neutrophiles	27,0
Polynucléaires éosinophiles	1,5
Lymphocytes	5,5
Monocytes	1,5
Proérythroblastes + Erythroblastes basophiles	4,5
Erythroblastes polychromatophiles et orthochr.	24,0

Numération des éléments nucléés de la moelle : 1 260 000

Sidéroblastes : 104 000

Autres examens :

Cholestérol total : 2,05 g/l

Poids du lapin : 2 845 grammes

DISCUSSION DES PRINCIPAUX FAITS OBSERVES

Sérum :

Nous observons une hypercholestérolémie de 2,05 g/l ; nous la considérons très importante sachant que le taux normal de cholestérol total du lapin est de 0,58 gl (KOHL, 88).

La lignée plaquettaire :

La vingt-cinquième injection a lieu la veille du sacrifice et nous observons une thrombocytopénie, consécutive à une destruction récente des plaquettes dans le sang périphérique.

La lignée blanche :

Nous notons une légère leucocytose avec une diminution des polynucléaires neutrophiles et une augmentation du nombre des lymphocytes, indice possible d'hyperplasie médullaire, corroborée par une augmentation de poids de 445 grammes.

La lignée rouge :

Le taux de cholestérol important, que nous avons observé, protège les hématies et leur permet un vieillissement prolongé que nous constatons par un indice de sphéricité relativement élevé de 0,50, alors que nous observons, au cours de toute notre expérimentation un indice moyen de 0,44.

Le vieillissement prolongé des hématies est corroboré par les courbes de distribution des hématies suivant leur diamètre et leur résistance globulaire à l'hypotonie ; ces courbes nous montrent une proportion égale d'hématies jeunes et d'hématies vieilles.

Courbe diamétrale :

Nous observons de la macrocytose et de la microcytose en égale proportion. Notons à ce sujet que la macrocytose est masquée par la coexistence d'éléments microcytaires dans les mesures moyennes du diamètre, de la valeur globulaire et du volume globulaire moyen. CROIZAT et coll. (41 et 42) ont constaté ce fait à plusieurs reprises en précisant que la courbe de Price-Jones reflète fidèlement, par contre, la persistance ou la réapparition d'anomalies globulaires chez un sujet apparemment normal.

Résistance globulaire :

La courbe de résistance globulaire à l'hypotonie révèle la même disparité des hématies que la courbe de Price-Jones ; les microcytes ont une résistance diminuée et les macrocytes, qui sont des platyocytes comme nous allons le voir, ont une résistance augmentée.

Etude de l'anisocytose :

Les étalements, faits avec du sang frais sortant de la veine, ont été étudiés pour établir la courbe diamétrale. Un examen attentif de nos microphotographies nous révèle entre autres :

— L'hématie A, située près de l'hématie n° 45, nous donne un aspect de globule en voie de bipartition.

— L'hématie B, située près de l'hématie n° 64, nous montre une phase terminale de bipartition.

— L'hématie n° 101 : aspect de tripartition. Nous n'avons jamais observé de telles images sur les frottis confectionnés avec le sang des autres lapins.

L'hématie n° 101 correspond à un diamètre de 17 microns (surface 200 mm^2).

Le phénomène de bipartition a été décrit par BROcq et STE-PHANOPOLI (28, 29, 30) qui l'avaient observé dans un sang extravasé. Pour ces auteurs il s'agirait, non d'une dégénération, mais d'un phénomène trophique d'une grande régularité, d'un processus ultime de maturation, déclenché ou précipité par les oxydations biologiques.

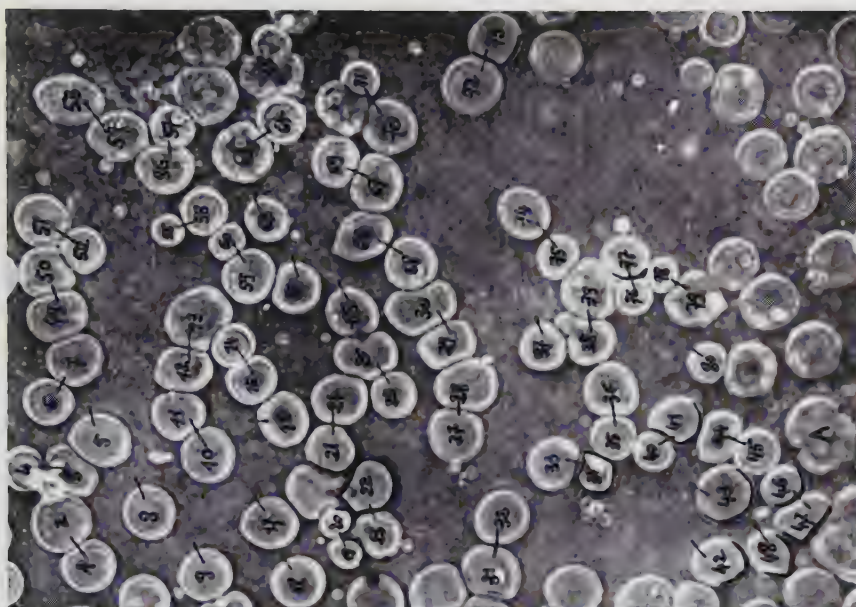
De cette étude, nous concluons que l'hématie normale devient un platyocyte à la suite d'une intoxication par le digitonoside ; les platyocytes de très grande taille sont les « mégaloocytes » signalés par ISAAC et MOCKEL et par bipartition ils fournissent les globules de taille normale ou inférieure à la normale. Les tous petits éléments rencontrés, les schizocytes, sont généralement considérés comme des débris d'hématies.

Comme nous n'avons jamais plus rencontré ce phénomène de bipartition, nous avons cherché les éléments caractérisant l'expérimentation de cet animal.

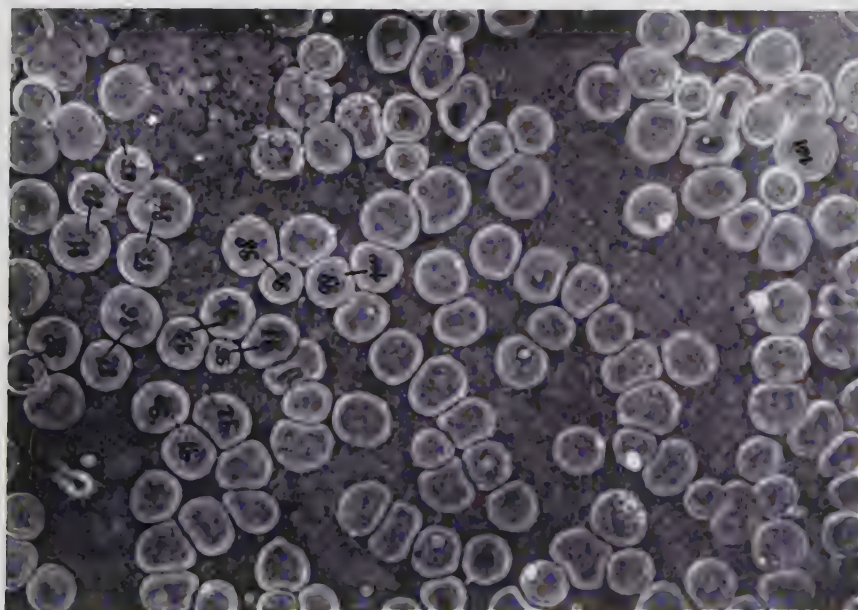
Nous notons que :

1) l'examen hématologique a été pratiqué dès le lendemain de la dernière injection.

2) le taux de cholestérol total est anormalement élevé, démontrant un effet particulièrement important des glandes surrénales.



Lapin B après vingt-cinq injections



Lapin B après vingt-cinq injections

MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « B »
APRES VINGT-CINQ INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

1^{re} colonne : numéro de l'hématie.

2^e colonne : surface de l'hématie en mm², obtenue en parcourant deux fois le tour de l'hématie par planimétrie.

TABEAU 103

1	122	26	87	51	121	76	50
	152		134		78		86
	100		149		146		39
	78		108		130		131
5	137	30	146	55	33	80	59
	96		137		120		157
	123		131		75		90
	123		108		86		124
	120		72		126		168
10	128	35	84	60	43	85	83
	110		135		106		173
	108		92		80		108
	170		114		155		120
	68		139		92		81
15	95	40	56	65	110	90	132
	121		112		120		123
	130		124		129		127
	122		157		119		111
	43		90		92		123
20	41	45	185	70	127	95	46
	118		78		50		75
	129		97		151		120
	80		97		115		140
	122		135		118		105
25	117	50	118	75	70	100	111

Surface totale mesurée : 10 912 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 54,56 mm², ce qui correspond à un diamètre de 6,41 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
20,0 à 28,0	3	0
28,0 à 37,4	3,5	1
37,4 à 48,0	4	5
48,0 à 60,0	4,5	4
60,0 à 73,0	5	3
73,0 à 87,6	5,5	13
87,6 à 103,6	6	10
103,6 à 120,8	6,5	23
120,8 à 139,4	7	28
139,4 à 159,4	7,5	9
159,4 à 180,6	8	3
180,6 à 203,2	8,5	1
203,2 à 227,0	9	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU LAPIN « B », APRES VINGT-CINQ INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 104

Diamètres mesurés en microns x	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
3,5	1	— 6	— 6	36
4	5	— 5	— 25	125
4,5	4	— 4	— 16	64
5	3	— 3	— 9	27
5,5	13	— 2	— 26	52
6	10	— 1	— 10	10
6,5	23	0	0	0
7	28	+ 1	+ 28	28
7,5	9	+ 2	+ 18	36
8	3	+ 3	+ 9	27
8,5	1	+ 4	+ 4	16
Total	100		— 33	421

Résultats en données abrégées

Moyenne : $— 33 / 100 = — 0,33$

Terme C : $(33)^2 / 100 = 10,89$

Somme des carrés :

421 — 10,89 = 410

Variance : $410 / 99 = 4,1$

Résultats en données originales

Moyenne :

$6,5 — (0,33 \times 0,5) = 6,35$

Variance : $4,1 \times (0,5)^2 = 1,02$

Ecart type : $\sqrt{1,02} = 1,01$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE, APRES VINGT-CINQ INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « B ».

TABLEAU 105

Données expérimentales		Equation de la courbe théorique		
m = 6,35		P % = 49,5 f (t)		
s = 1,01		t = 0,99 (x — 6,35)		
1 / s = 0,99		$f(t) = 1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$		
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,35)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
9	2,65	2,623	0,0129	0,638
8,50	2,15	2,128	0,0422	2,089
8	1,65	1,633	0,1057	5,232
7,50	1,15	1,138	0,2085	10,321
7	0,65	0,643	0,3251	16,094
6,50	0,15	0,148	0,3951	19,559
6,35	0	0	0,3989	19,747

**ETUDE STATISTIQUE DE LA RESISTANCE A L'HYPOTONIE
DES HEMATIES DU LAPIN « B », APRES VINGT-CINQ IN-
JECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE**

TABLEAU 106

NaCl g/l	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
8	0			
7,5	4	+ 5	+ 20	100
7	4	+ 4	+ 16	64
6,5	4	+ 3	+ 12	36
6	8	+ 2	+ 16	32
5,5	10	+ 1	+ 10	10
5	24	0	0	0
4,5	20	— 1	— 20	20
4	10	— 2	— 20	40
3,5	8	— 3	— 24	72
3	2	— 4	— 8	32
2,5	5	— 5	— 25	125
2	1	— 6	— 6	36
1,5	0			
Total	100		— 29	567

*Résultats en données abrégées*Moyenne : $-29 / 100 = -0,29$ Terme C : $(29)^2 / 100 = 8,41$

Somme des carrés :

$$567 - 8,4 \cdot 100 = 559$$

Variance : $559 / 99 = 5,59$ *Résultats en données originales*

Moyenne :

$$5 - (0,29 \times 0,5) = 4,86$$

Variance : $5,59 \times (0,5)^2 = 1,40$ Ecart type : $\sqrt{1,40} = 1,18$

**DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE
LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA
A LA DISTRIBUTION DS HEMATIES SUIVANT LEUR RESIS-
TANCE A L'HYPOTONIE, APRES VINGT-CINQ INJECTIONS
DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE, LAPIN
« B ».**

TABLEAU 107

<i>Données expérimentales</i>			<i>Equation de la courbe</i>	
m = 4,86			P % = 42,37 f (t)	
s = 1,18			t = 0,84 (x — 4,86)	
1/s = 0,8474			$f(t) = 1 / \sqrt{2\pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 4,86)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8	3,14	2,661	0,0116	0,491
7,50	2,64	2,237	0,0330	1,398
7	2,14	1,813	0,0775	3,284
6,50	1,64	1,389	0,1540	6,525
6	1,14	0,966	0,2516	10,661
5,50	0,64	0,542	0,3448	14,610
5	0,14	0,118	0,3960	16,780
4,86	0	0	0,3989	16,902

CHAPITRE XII

L'expérimentation du troisième groupe a duré cent quarante-six jours au cours desquels les lapins F et H reçoivent vingt-huit injections de deux millilitres de solution concentrée de digitonoside.

L'intoxication provoquée est caractérisée par :

- 1) une augmentation de la résistance globulaire moyenne à l'hypotonie,
- 2) par une augmentation du diamètre moyen :

20 à 60 p. 100 des hématies, suivant l'animal considéré ont un diamètre de 7,5 microns ou plus. Il n'y a cependant pas de macrocytes de grande surface : le plus grand diamètre mesuré a 8,5 microns.

L'examen du dernier groupe d'animaux sera pour nous l'occasion d'étudier :

- à propos du lapin F :
le type de l'anémie provoquée par le digitonoside.
- à propos du lapin H :
l'augmentation des sidérocytes et des réticulocytes ;
les caractéristiques de l'intoxication provoquée par le digitonoside.

Septième observation — lapin F

L'animal nous paraît normal. Nous notons un poids de 3 390 grammes. Suivi depuis sa naissance, il n'a jamais eu de maladies. Au début de l'expérience, il est pratiqué un certain nombre d'examen hématologiques dont voici le résultat :

Le sang :

Hématies : 4 540 000 ; Hématocrite : 36,0 p. 100 ;
Hémoglobine : 123 g/l (94 p. 100) ;
Valeur globulaire relative : 1,05 ;
Valeur globulaire absolue : 26,8 ; Sidérocytes : 68 100 ;
Réticulocytes : 2,9 p. 100 (soit 131 000) ; Hématies à granulations basophiles : 0,40 p. 100 (soit 18 000) ;
Leucocytes : 8 710
Plaquettes : 627 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	16,30
Polynucléaires éosinophiles	3,00
Polynucléaires basophiles	7,70
Lymphocytes	69,70
Monocytes	3,30

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,55 microns

Volume globulaire moyen : 79,29 micron-cubes

Concentration globulaire moyenne : 34,1 p. 100

Indice de sphérocytose : 0,53

Courbe de Price-Jones :

La courbe de distribution est normale. 43 p. 100 des globules ont un diamètre de 6,5 microns ; 5 p. 100 ont un diamètre de 5,5 microns et ils représentent les plus petits érythrocytes de la population ; 2 p. 100 mesurent 8 microns et le plus grand érythrocyte a un diamètre de 8,5 microns.

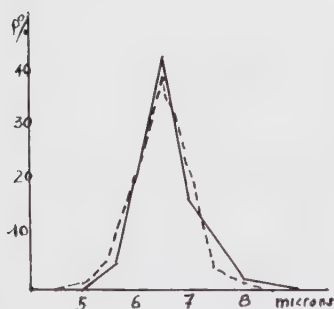


FIG. 75

LAPIN F

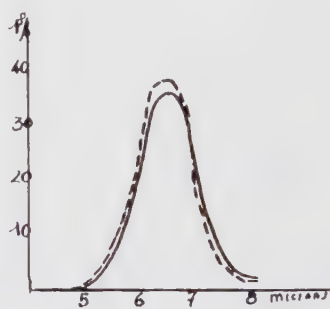


FIG. 76

FIG. 75 — *Courbes diamétrales*

FIG. 76 — *Courbes théoriques correspondantes*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe avant injections.

Courbe de fragilité osmotique :

La courbe est déviée vers la gauche indiquant une diminution de la résistance moyenne des hématies à l'hypotonie. L'hémolyse commence pour une concentration en chlorure de sodium de 7,50 g/l et elle est pratiquement totale pour une concentration de 4,50 g/l ; 1,5 p. 100 des hématies sont lysées pour une concentration de 3 g/l et 1,5 p. 100 pour une concentration de 1,5 g/l. Le coefficient de variation est de 11,11 p. 100 si l'on tient compte seulement de la première population.

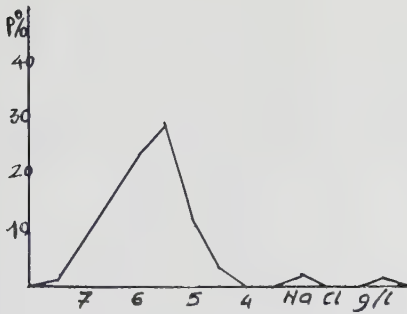


FIG. 77

LAPIN F

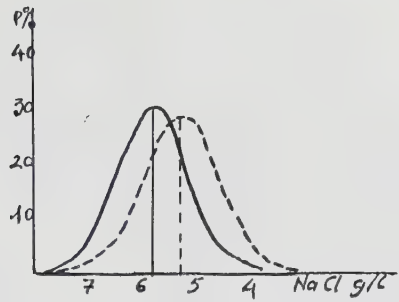


FIG. 78

FIG. 77 — *Courbe de fragilité osmotique*

FIG. 78 — *Courbes théoriques*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe avant injections.

En possession de tous ces examens, nous considérons que l'animal est normal et nous commençons les injections de solution concentrée de digitonoside.

L'expérimentation dure cent quarante six jours au cours desquels l'animal reçoit vingt-huit injections. A partir du quarante-huitième jour, nous suivons l'évolution de l'intoxication par des dosages quotidiens d'hémoglobine (fig. 31, page 192), associés à des mesures du taux d'hématocrite. L'établissement des deux courbes nous donne sensiblement les mêmes renseignements ; nous notons encore des successions de maximums et minimums dont l'amplitude tend à diminuer.

Trois jours après la dernière injection, nous décidons de sacrifier l'animal, qui accuse, à cette époque, une augmentation de poids de 705 grammes.

Les examens révèlent :

Le sang périphérique :

Hématies : 4 210 000 ; Hématocrite : 30,0 p. 100 ;

Hémoglobine : 97,5 g/l (75 p. 100) ;

Valeur globulaire relative : 0,91 ;

Valeur globulaire absolue : 23,1 ; Sidérocytes : 294 000 ;

Réticulocytes : 11 p. 100 (soit : 463 000) ; Hématies à granulations basophiles : 0,70 p. 100 (soit : 29 500) ;

Leucocytes : 8 570

Plaquettes : 1 020 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	44,0
Polynucléaires éosinophiles	3,0
Polynucléaires basophiles	8,0
Lymphocytes	43,0
Monocytes	2,0

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,79 microns

Volume globulaire moyen : 71,26 micron-cubes

Concentration globulaire moyenne : 32,5 p. 100

Indice de sphérocytose : 0,43

Courbe de Price-Jones :

La courbe diamétrale révèle une base très large si l'on tient compte des deux populations mises en évidence. Il n'y a pas de microcytose, mais de la platycytose et de la schizocytose. Nous notons un pour cent d'hématies de trois microns et un pour cent d'hématies de 3,5 microns. Les plus petits érythrocytes ensuite rencontrés ont un diamètre de 5,5 microns et il n'y en a que deux. Par contre 45 p. 100 des globules mesurent de 7 à 9 microns. Le coefficient d'anisocytose est de 8,90 p. 100.

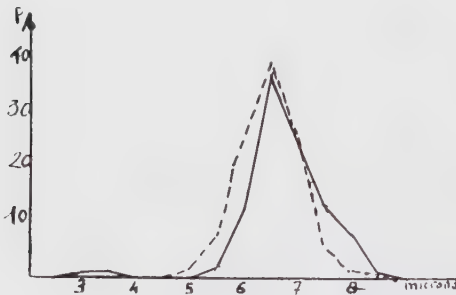


FIG. 79

LAPIN F

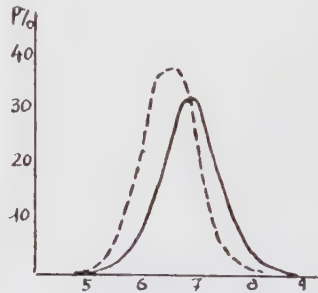


FIG. 80

FIG. 79 — *Courbes diamétrales*

FIG. 80 — *Courbes théoriques correspondantes*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe après vingt-huit injections.

Courbe de fragilité osmotique :

L'examen de la courbe expérimentale révèle l'augmentation de la résistance moyenne des hématies. L'hémolyse commence pour une concentration de chlorure de sodium de 6,50 g/l et elle est totale pour une concentration de 2,50 g/l ; 26 p. 100 des hématies sont détruites pour une concentration de 5 g/l et 24 p. 100 le sont pour une concentration de 4,50 g/l. Le coefficient de variation est de 14,17 p. 100. La courbe met en évidence deux populations. En tenant compte de ces deux populations, la résistance globulaire moyenne est égale à 4,88 g/l.

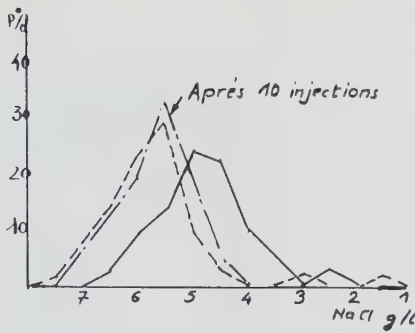


FIG. 81

LAPIN F

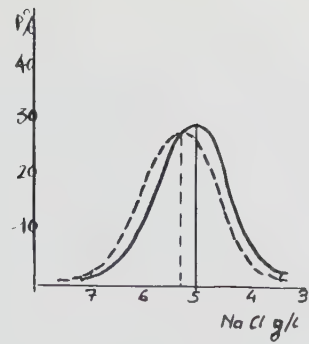


FIG. 82

FIG. 81 — *Courbes de fragilité osmotique*

FIG. 82 — *Courbes théoriques correspondantes*

En pointillé : courbe avant injections.

En trait plein : courbe après vingt-huit injections.

Myélogramme :

Myéloblastes	1,0
Promyélocytes	1,0
Myélocytes neutrophiles	11,0
Myélocytes éosinophiles	2,0
Métamyélocytes neutrophiles	13,0
Polynucléaires neutrophiles	30,0
Polynucléaires éosinophiles	2,0
Lymphocytes	9,0
Monocytes	0,0
Proérythroblastes + Erythroblastes basophiles	5,0
Erythroblastes polychromatophiles et orthochr.	26,0

Numération des éléments nucléés de la moelle : 675 000

Sidéroblastes : 32 000

Autres examens :

Fer sérique : 134 microgrammes pour 100 ml

Cholestérol total : 1,10 g/l

Poids du lapin : 4 095 grammes

DISCUSSION DES PRINCIPAUX FAITS OBSERVES

Sérum :

Nous observons une hypercholestérolémie de 1,10 g/l et le taux de fer sérique de 134 microgrammes pour 100 ml correspond à un nombre faible de sidérobastes de 32 000 par millimètre cube de moelle.

La lignée plaquettaire et blanche :

Nous constatons une hyperplaquettose associée à une légère leucopénie. Les plaquettes atteignent le nombre de 1 020 000 éléments par millimètre cube. Par contre, les lymphocytes diminuent de 26,7 p. 100.

La lignée rouge :

La courbe diamétrale montre une évolution vers les grands diamètres et la courbe de fragilité osmotique révèle l'évolution de la population vers une augmentation de la résistance des hématies à l'hypotonie (population sans éléments âgés).

Nous n'observons pas de phénomène de bipartition et le volume globulaire moyen a une valeur de 71,26 micron-cubes, indiquant une anémie de type normocytaire. L'anémie du lapin G était aussi du type normocytaire et rappelons qu'elle est caractérisée par une hypoplasie de la moelle.

Notons à ce sujet que l'examen des coefficients d'anisocytose nous donne une classification différente du type d'anémie provoquée ; nous avons en utilisant ce coefficient une anisonormocytose pour les lapins D, C, J et B ; nous avons, par contre, une anisomacrocytose pour les lapins G, F et plus tard H.

CROIZAT et coll. (43) estiment que le type d'anémie doit être jugé en volume et non en diamètre, ce dernier n'étant que le témoin habituel, mais non obligatoire du premier.

Conformément à l'avis de ces auteurs, nous conserverons la première classification que nous avons donnée et qui correspond davantage à la tendance vers l'hypochromie que nous constatons ; la microcytose, considérée comme le stigmate habituel des anémies hypochromes, est ainsi mise en valeur.

Nous établirons une classification complète à la fin de la dernière observation.

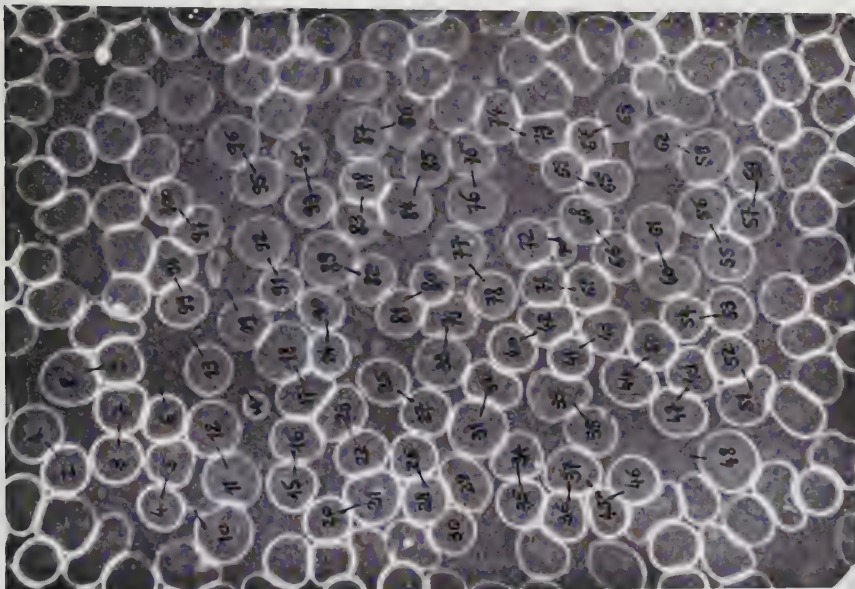
La moelle :

Les éléments nucléés de la moelle sont au nombre de 675 000 par millimètre cube et les sidérobastes sont diminués.

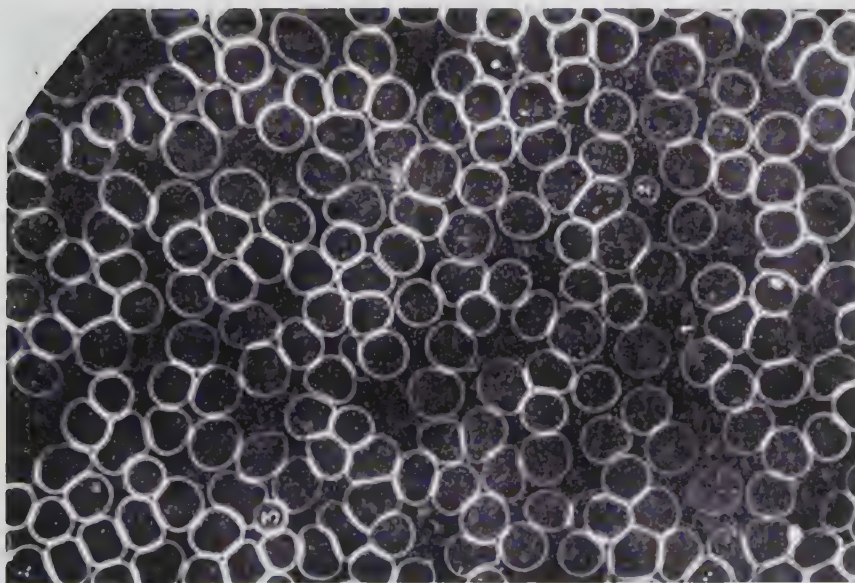
L'hyperplaquettose et l'augmentation de poids nous permettaient d'attendre une hyperplasie médullaire plus importante.

La diminution importante des lymphocytes et le caractère normocytaire de l'anémie sont pour nous, par contre, des signes possibles d'hypoplasie.

Nous concluons que l'intoxication évolue vers une aplasie de la moelle.



Lapin F après vingt-huit injections



Lapin F après vingt-huit injections

**MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « F »
APRES VINGT-HUIT INJECTIONS DE SOLUTION CONCEN-
TREE DE DIGITONOSIDE.**

1^{re} colonne : numéro de l'hématie.

2^e colonne : surface de l'hématie en mm², obtenue en parcourant
deux fois le tour de l'hématie par planimétrie.

TABLEAU 108

1	141	26	109	51	144	76	155
	112		119		110		127
	122		111		110		110
	100		141		100		114
5	113	30	106	55	130	80	87
	93		172		137		110
	125		134		102		107
	166		140		148		106
	113		119		112		142
10	176	35	118	60	147	85	124
	154		110		138		116
	160		136		126		140
	122		126		138		106
	26		149		91		171
15	124	40	110	65	118	90	90
	120		87		106		95
	123		111		108		143
	174		121		114		113
	130		134		90		114
20	103	45	98	70	33	95	119
	155		120		99		137
	169		130		118		107
	137		190		127		116
	91		122		113		113
25	121	50	113	75	107	100	98

Surface totale mesurée : 12 123 mm² (planimétrie en parcourant
deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 60,61 mm², ce qui correspond à
un diamètre de 6,73 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
20,0 à 28,0	3	1
28,0 à 37,4	3,5	1
37,4 à 48,0	4	0
48,0 à 60,0	4,5	0
60,0 à 73,0	5	0
73,0 à 87,6	5,5	2
87,6 à 103,6	6	13
103,6 à 120,8	6,5	38
120,8 à 139,4	7	24
139,4 à 159,4	7,5	13
159,4 à 180,6	8	7
180,6 à 203,2	8,5	1
203,2 à 227,0	9	0

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU LAPIN « F », APRES VINGT-HUIT INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABEAU 109

Diamètres mesurés en microns	Fréquence f	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
5	0			
5,5	2	— 2	— 4	8
6	13	— 1	— 13	13
6,5	38	0	0	0
7	24	+ 1	+ 24	24
7,5	13	+ 2	+ 26	52
8	7	+ 3	+ 21	63
8,5	1	+ 4	+ 4	16
Total	98		+ 58	176

Résultats en données abrégées

Moyenne : $58 / 98 = 0,591$

Terme C : $(58)^2 / 98 = 34,2$

Somme des carrés :

$$176 - 34,2 \neq 142$$

Variance : $142 / 97 = 1,46$

Résultats en données originales

Moyenne :

$$6,5 + (0,591 \times 0,5) = 6,79$$

Variance : $1,46 \times (0,5)^2 = 0,365$

Ecart type : $\sqrt{0,365} = 0,604$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIAMETRE, APRES VINGT-HUIT INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « F ».

TABEAU 110

Données expérimentales			Equation de la courbe théorique	
m = 6,79			P % = 82,78 f (t)	
s = 0,604			t = 1,65 (x — 6,79)	
l / s = 1,65			$f(t) = 1 / \sqrt{2\pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
Diamètres mesurés en microns x	(x — 6,79)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
8,5	1,71	2,82	0,0075	0,62
8	1,21	1,99	0,0551	4,56
7,5	0,71	1,17	0,2012	16,65
7	0,21	0,34	0,3765	31,16
6,79	0	0	0,3989	33,02

ETUDE STATISTIQUE DE LA PREMIERE POPULATION D'HEMATIES, DETERMINEE PAR LE TEST DE RESISTANCE A L'HYPOTONIE, APRES VINGT-HUIT INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « F ».

TABEAU 111

NaCl g/l	Fréquence f	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
7	0			
6,5	4	+ 3	+ 12	36
6	12	+ 2	+ 24	48
5,5	16	+ 1	+ 16	16
5	26	0	0	0
4,5	24	— 1	— 24	24
4	10	— 2	— 20	40
3,5	4	— 3	— 12	36
3	0			
2,5	 4	(deuxième population)		
2	 0			
Total	96		— 4	200

Résultats en données abrégées

Moyenne : $-4/96 = 0,0416$

Terme C : $(4)^2/96 = 0,166$

Somme des carrés :

$200 - 0,16 \# 200$

Variance : $200/95 = 2,1$

Résultats en données originales

Moyenne :

$5 - (0,04 \times 0,5) = 4,98$

Variance : $2,1 \times (0,5)^2 = 0,5$

Ecart type : $\sqrt{0,5} = 0,706$

En tenant compte des deux populations, la résistance globulaire moyenne devient égale à 4,88 g/l.

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESISTANCE A L'HYPOTONIE, APRES VINGT-HUIT INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « F ».

TABEAU 112

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 4,98			P % = 70.82 f (t)	
s = 0,706			t = 1,41 (x — 4,98)	
1/s = 1,41			f (t) = $1/\sqrt{2\pi} \times e^{-t^2}$	
NaCl g/l x	(x — 4,98)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
6,50	1,52	2,14	0,0404	2,86
6	1,02	1,43	0,1435	10,16
5,50	0,52	0,73	0,3056	21,64
5	0,02	0,03	0,3988	28,24
4,98	0	0	0,3989	28,25

CHAPITRE XIII

Huitième observation — lapin H

L'animal est de constitution normale. Son poids est de 3 105 grammes. Suivi depuis sa naissance, il n'a jamais eu de maladies infectieuses. Avant toute injection, l'examen hématologique nous révèle :

Le sang périphérique :

Hématies : 4 540 000 ; Hématocrite : 37,5 p. 100 ;
Hémoglobine : 123 g/l (94 p. 100) ;
Valeur globulaire relative : 1,05 ;
Valeur globulaire absolue : 26,8 ; Sidérocytes : 40 860 ;
Réticulocytes : 4,0 p. 100 (soit 181 600) ; Hématies à granulations basophiles : 0,35 p. 100 (soit 15 000).
Leucocytes : 6 920
Plaquettes : 503 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	30,8
Polynucléaires éosinophiles	0,7
Polynucléaires basophiles	5,3
Lymphocytes	59,3
Monocytes	3,9

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 6,23 microns
Volume globulaire moyen : 82,59 micron-cubes
Concentration globulaire moyenne : 32,8 p. 100
Indice de sphérocytose : 0,65

Courbe de Price-Jones :

La courbe montre une légère déviation vers les petits diamètres avec une valeur dominante de 6 microns au lieu de 6,5 habituellement. Les valeurs extrêmes sont de 5 et 7,5 microns, ce qui révèle une base étroite. L'anisocytose est de 7,52 p. 100.

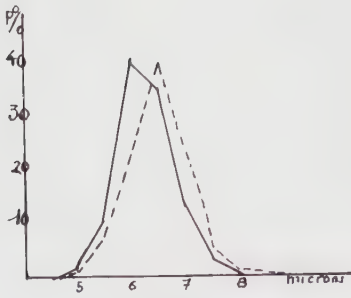


FIG. 83

LAPIN H

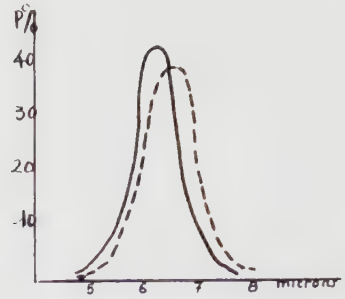


FIG. 84

FIG. 83 — *Courbes diamétrales*FIG. 84 — *Courbes théoriques correspondantes*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe avant injections.

Courbe de fragilité osmotique :

La comparaison de la courbe normale, que nous avons calculée, avec la courbe que nous étudions, montre la déviation de cette dernière vers la gauche ; la résistance moyenne est diminuée. L'hémolyse commence pour une concentration en chlorure de sodium de 6,50 g/l ; elle est totale pour une concentration de 4,00 g/l. La résistance globulaire moyenne a une valeur de 5,70, exprimée en grammes par litre de chlorure de sodium, alors que la résistance moyenne normale est de 5,30. Le test met en évidence une population assez homogène et le coefficient de variation est de 10,94 p. 100.

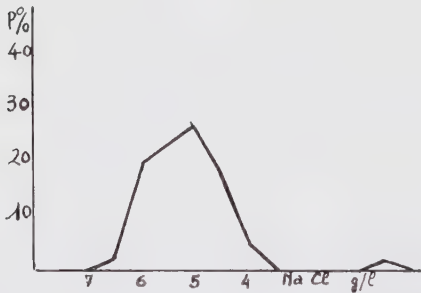


FIG. 85

LAPIN H



FIG. 86

FIG. 85 — *Courbe de fragilité osmotique*FIG. 86 — *Courbes théoriques*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe avant injections.

En possession de tous ces examens nous considérons que l'animal est normal et nous commençons les injections de solution concentrée de digitonoside.

L'expérimentation dure le même temps que celle du lapin F. Pendant cent quarante-six jours l'animal reçoit vingt-huit injections.

A partir du quarante-huitième jour, nous suivons l'évolution de l'intoxication par des dosages quotidiens d'hémoglobine (fig. 32, page 193), associés à des mesures du taux d'hématocrite. Les données expérimentales nous permettent de construire deux courbes sur le même graphique, la première nous indique le taux d'hémoglobine en fonction du temps et la seconde la valeur de l'hématocrite en fonction du temps. Nous constatons que les deux courbes nous donnent sensiblement les mêmes renseignements.

L'érythrocytémie diminue progressivement suivant le processus décrit et nous observons que les maximums et les minimums sont moins accentués qu'avec le lapin F, étudié précédemment.

Quatre jours après la dernière injection nous décidons de sacrifier l'animal, qui accuse au moment du dernier bilan, une augmentation de poids de 415 grammes.

L'examen hématologique nous révèle :

Le sang périphérique :

Hématies : 4 300 000 ; Hématocrite : 32,0 p. 100 ;
Hémoglobine : 97,5 g/l (75 p. 100) ;
Valeur globulaire relative : 0,89 ;
Valeur globulaire absolue : 22,6 ; Sidérocytes : 946 000 ;
Réticulocytes : 60 p. 100 (soit 2 580 000) ; Hématies à granulations basophiles : 0,50 p. 100 (soit 21 500).
Leucocytes : 9 720
Plaquettes : 304 000

Formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles	40,5
Polynucléaires éosinophiles	4,5
Polynucléaires basophiles	1,5
Lymphocytes	51,0
Monocytes	2,5

Les mensurations globulaires :

Diamètre moyen : 7,32 microns
Volume globulaire moyen : 74,41 micron-cubes
Concentration globulaire moyenne : 30,4 p. 100
Indice de sphérocytose : 0,36

Courbe de Price-Jones :

La courbe diamétrale montre une déviation importante vers la droite. La macrocytose est beaucoup plus nette que dans aucune autre expérience. La microcytose est totalement disparue ; le plus petit érythrocyte appartient à la classe des globules de 5,5 microns. Par contre la macrocytose est importante, puisque 79 p. 100 des hématies

ont un diamètre compris entre 7 et 8,5 microns et 4 p. 100 des globules mesurent 8,5 microns.

L'anisocytose est de 8,33 p. 100, valeur très faible comparée à celles que nous avons trouvées au cours de notre expérimentation.

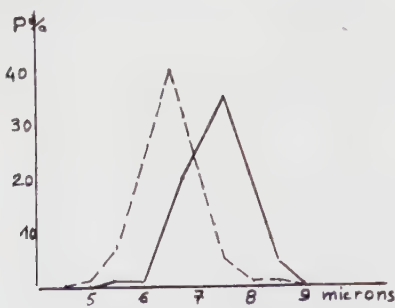


FIG. 87

LAPIN H

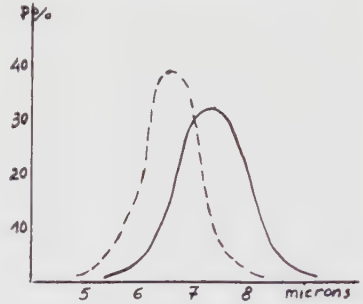


FIG. 88

FIG. 87 — *Courbes diamétrales*

FIG. 88 — *Courbes théoriques correspondantes*

En pointillé : courbe normale.

En trait plein : courbe après vingt-huit injections.

Courbe fragilité osmotique

La courbe de fragilité osmotique est aussi caractéristique que la précédente. La résistance moyenne des hématies est nettement augmentée. L'hémolyse commence seulement pour des concentrations en chlorure de sodium de 5,50 g/l et elle est totale dans le tube d'eau distillée seulement. La valeur moyenne est de 3,91 g/l exprimée en chlorure de sodium.

La population est hétérogène et la courbe a une base très large avec un coefficient de variation de 17,67 p. 100.

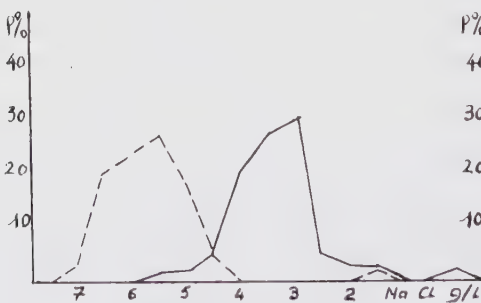


FIG. 89

LAPIN H

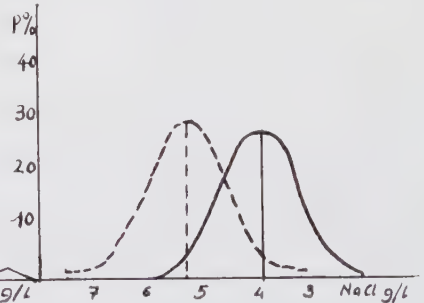


FIG. 90

FIG. 89 — *Courbes de fragilité osmotique*

FIG. 90 — *Courbes théoriques correspondantes*

En pointillé : courbe avant injections.

En trait plein : courbe après vingt-huit injections.

Il est intéressant de comparer cette augmentation de la résistance globulaire au pourcentage des réticulocytes qui s'élève à 60 p. 100 ; 13 p. 100 de ceux-ci ont un réticulum très net ; les autres ne renferment qu'un faible nombre de granulations. Nous déduisons de cette courbe que les réticulocytes représentent environ 50 p. 100 des hématies qui résistent à un liquide hypotonique correspondant à une concentration en chlorure de sodium de 4 g/l.

Myélogramme :

Myéloblastes	1,0
Promyélocytes	1,0
Myélocytes neutrophiles	12,0
Myélocytes éosinophiles	4,0
Métamyélocytes neutrophiles	13,0
Polynucléaires neutrophiles	39,00
Polynucléaires éosinophiles	1,0
Lymphocytes	5,0
Monocytes	0,0
Proérythroblastes + Erythroblastes Basophiles	5,0
Erythroblastes polychromatophiles et orthochr.	19,0
Numération des éléments nucléés de la moelle : 610 000	
Sidéroblastes : 23 000	

Autres examens :

Fer sérique : 154 microgrammes pour 100 ml
Cholestérol total : 1,20 g/l
Poids du lapin : 3 520 grammes

DISCUSSION DES PRINCIPAUX FAITS OBSERVES

Sérum :

Nous observons comme d'habitude un taux important de cholestérol total.

Le fer sérique a une valeur élevée de 154 microgrammes pour 100 ml.

La lignée plaquettaire et blanche :

Nous constatons une thrombocytopénie importante associée à une légère leucocytose.

La lignée rouge :

La courbe diamétrale montre que la microcytose est totalement disparue et que 83 p. 100 des hématies ont un diamètre qui dépasse 7 microns, mais il n'y a pas de macrocyte de grande surface.

Nous n'observons pas de phénomène de bipartition et le volume globulaire moyen a une valeur de 74,41 micron-cubes, indiquant une anémie normocytaire.

Les hématies sont plates. L'indice de sphéricité a une valeur de 0,36, la plus faible trouvée. Nous en déduisons que tous les érythrocytes sont des platycytes dont nous croyons pouvoir déduire les caractéristiques suivantes :

Diamètre moyen : 7,3 microns ;

Résistance globulaire moyenne : 3,9 g/l (exprimée en chlorure de sodium) ;

Volume globulaire moyen : 74,41 micron-cubes ;

Epaisseur : environ 1 micron.

Nous observons une réticulocytose importante associée à un grand nombre de sidérocytes.

Sidérocytes :

Nous observons un nombre important de sidérocytes voisin de un million par millimètre cube.

Sitôt leur découverte, on avait cru que les sidérocytes étaient des globules vieillis contenant des granulations de fer (101), mais BESSIS et coll. (15) ont montré que les molécules de ferritine, groupées en granules dispersés, sont très rares à l'état normal dans le globule rouge mûr et qu'elles sont fréquentes dans les réticulocytes et dans les globules de l'anémie hémolytique.

Chez un animal normal nous constatons une moyenne de 66 700 sidérocytes par millimètre cube et nous observons qu'ils atteignent une moyenne de 532 000 par millimètre cube, à la suite de l'intoxication par le digitonide. Parallèlement les réticulocytes passent de 118 000 à 628 000.

Les sidérocytes du lapin H sont particulièrement augmentés, avec un nombre de 946 000 par millimètre cube et ils sont associés à une hyperréticulocytose de 60 p. 100. Nous les considérons, en conséquence comme des éléments jeunes, dont il nous est difficile d'apprécier les variations.

Nous constatons cependant que le nombre total de sidérocytes et de réticulocytes s'accroît en général avec le nombre d'injections de digitonide, comme le montre le tableau suivant.

TABLEAU 112 bis

<i>Expérimentation de lapins adultes</i>	<i>Nombre total de sidérocytes et de réticulocytes (en milliers par mm³)</i>
Animaux du premier groupe	
G	607
C	725
D	910
Animaux du second groupe	
B	911
J	1 032
Animaux du troisième groupe	
F	747
H	3 526

Si nous comparons maintenant le pourcentage total des sidérocytes et des réticulocytes que nous observons, nous constatons qu'il est particulièrement augmenté dans les cas de leucocytose des lapins G, B, J, H avec des valeurs respectives de 18,3 - 19,6 - 16,6 et 62 p. 100 ; par contre la leucopénie du lapin F est associée au pourcentage plus faible de 11,7 et les animaux C et D, qui ont reçu une faible quantité de digitonoside et qui présentent une érythrocytémie importante, ont les pourcentages très faibles de 3,1 et 5,9 p. 100.

En conclusion le nombre total de sidérocytes et de réticulocytes augmente le plus souvent en fonction de l'intoxication et les sidérocytes sont des éléments jeunes.

Moelle osseuse :

Nous observons comparativement aux animaux des premiers groupes (C, J, B) un nombre faible d'éléments nucléés : 610 000 par millimètre cube.

Nous savons, par les travaux de PAPPENHEIM et SZECSI (116), que les doses fortes de saponine inhibent la moelle osseuse et que la plupart de nos animaux ont réagi selon la loi de pathologie générale établie par ARNDT et SCHULTZE ; cette loi précise que si une substance est inhibitrice des tissus à doses fortes, elle peut les exciter à doses faibles ; dans le cas présent, les faibles quantités de digitonoside que nous avons employées provoquent l'hyperplasie médullaire des premiers lapins expérimentés.

Mais si l'agression persiste, comme le souligne CAZAL, cette réaction initiale évolue peu à peu vers une inhibition et vers l'aplasie médullaire. Nous pensons que c'est la raison qui explique la diminution du nombre des éléments nucléés de la moelle osseuse des animaux J et H qui ont reçu le plus grand nombre d'injections de solution de digitonoside. La saponine injectée à répétition provoque à la longue à la fois une aplasie médullaire par sclérose et une métaplasie myéloïde hépatosplénique (34).

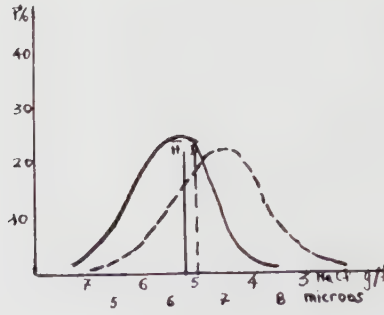
Nous en concluons que la moelle osseuse des animaux du dernier groupe évolue vers l'aplasie médullaire et que l'intoxication par le digitonoside provoque une anémie microcytique dans les phases d'hyperplasie médullaire (lapins C, D, J, B) et une anémie normocytaire dans les phases d'hypoplasie (lapin G) ou d'aplasie médullaire (lapins F et H). Les caractéristiques de l'intoxication provoquée par le digitonoside sont alors les suivantes :

S'il y a hypoplasie médullaire, nous avons (lapin G) :

une anémie normocytaire ;

un diamètre moyen augmenté ;

mais une résistance globulaire moyenne à l'hypotonie diminuée.



LAPIN G

FIG. 91 — *Courbes théoriques après injections*

En pointillé : courbe diamétrale.

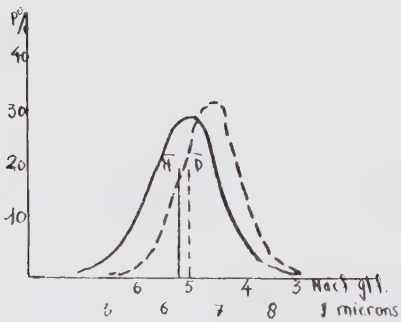
En trait plein : courbe de fragilité osmotique.

S'il y a aplasie médullaire,, nous avons (lapins F et H) :

une anémie normocytaire ;

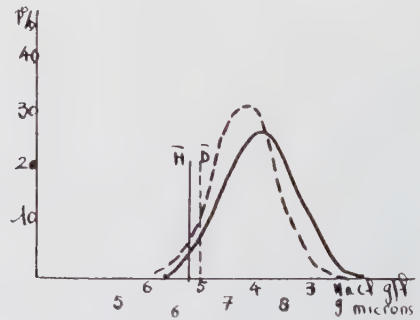
un diamètre moyen augmenté ;

et une résistance globulaire moyenne à l'hypotonie augmentée.



LAPIN F

FIG. 92



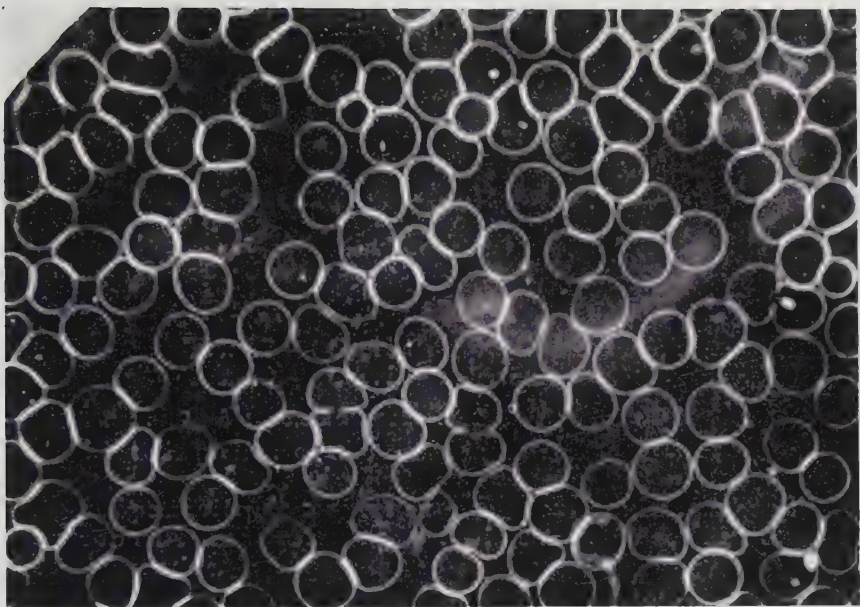
LAPIN H

FIG. 93

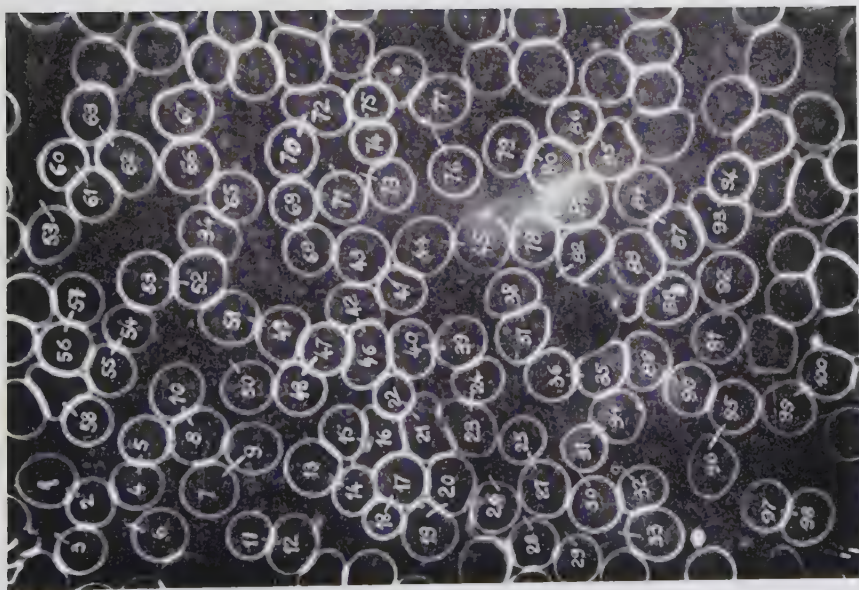
Courbes théoriques après injections

En pointillé : courbe diamétrale.

En trait plein : courbe de fragilité osmotique.



Lapin H après vingt-huit injections



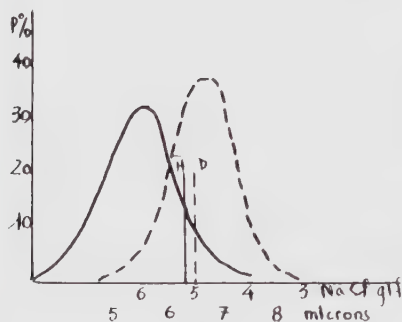
Lapin H après vingt-huit injections

S'il y a hyperplasie médullaire, nous avons :

une anémie microcytique ;

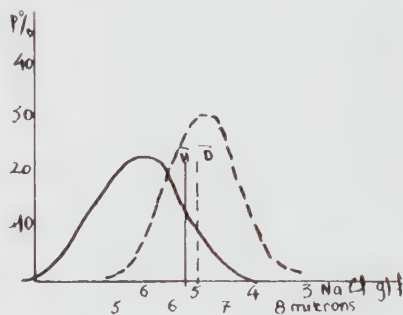
un diamètre moyen dans les limites normales

une résistance globulaire diminuée au début de l'intoxication (lapins C et D), augmentée ensuite (lapins J et B).



LAPIN C

FIG. 94



LAPIN D

FIG. 95

Courbes théoriques après injections

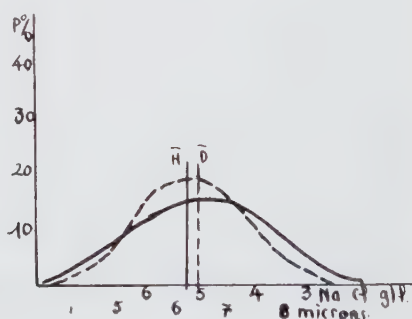
En pointillé : courbe diamétrale.

En trait plein : courbe de fragilité osmotique



LAPIN J

FIG. 96



LAPIN B

FIG. 97

Courbes théoriques après injections

En pointillé : courbe diamétrale.

En trait plein : courbe de fragilité osmotique

**MESURE DES SURFACES DES HEMATIES DU LAPIN « H »
APRES VINGT-HUIT INJECTIONS DE SOLUTION CONCEN-
TREE DE DIGITONOSIDE.**

1^{re} colonne : numéro de l'hématie.

2^e colonne : surface de l'hématie en mm², obtenue en parcourant deux fois le tour de l'hématie par planimétrie.

TABLEAU 113

1	162	26	132	51	160	76	133
	115		156		159		153
	118		130		169		137
	130		126		120		150
5	127	30	152	55	125	80	130
	152		104		149		160
	168		120		138		147
	170		162		121		164
	155		190		147		117
10	153	35	138	60	116	85	157
	107		144		127		139
	158		155		186		157
	164		132		150		155
	107		141		147		143
15	125	40	149	65	140	90	141
	134		113		160		146
	154		134		160		184
	80		164		134		163
	167		186		110		112
20	160	45	183	70	148	95	146
	163		165		129		157
	87		130		163		141
	167		139		124		148
	123		146		90		163
25	117	50	145	75	90	100	157

Surface totale mesurée : 14 261 mm² (planimétrie en parcourant deux fois le tour de l'hématie).

Surface moyenne d'une hématie : 71,3 mm², ce qui correspond à un diamètre de 7,32 microns.

Données pour l'établissement de la courbe de Price-Jones :

Surface en mm ²	Diamètre en microns	Nombre d'hématies
20,0 à 28,0	3	0
28,0 à 37,4	3,5	0
37,4 à 48,0	4	0
48,0 à 60,0	4,5	0
60,0 à 73,0	5	0
73,0 à 87,6	5,5	2
87,6 à 103,6	6	2
103,6 à 120,8	6,5	13
120,8 à 139,4	7	24
139,4 à 159,4	7,5	35
159,4 à 180,6	8	20
180,6 à 203,2	8,5	4

ETUDE STATISTIQUE DU DIAMETRE DES HEMATIES DU
LAPIN « H », APRES VINGT-HUIT INJECTIONS DE SOLU-
TION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE.

TABLEAU 114

Diamètres mesurés en microns x	Fréquence f p. 100	Ecart x sur moyenne arbitraire en microns	Produit f. x	Produit f. x ²
5	0			
5,5	2	— 3	— 6	18
6	2	— 2	— 4	8
6,5	13	— 1	— 13	13
7	24	0	0	0
7,5	35	+ 1	+ 35	35
8	20	+ 2	+ 40	80
8,5	4	+ 3	+ 12	36
Total	100		+ 64	190

Résultats en données abrégées

Moyenne : $64 / 100 = 0,64$

Terme C : $(64)^2 / 100 = 41$

Somme des carrés :

$190 - 41 = 149$

Variance : $149 / 99 = 1,49$

Résultats en données originales

Moyenne :

$7 + (0,64 \times 0,5) = 7,32$

Variance : $1,49 \times (0,5)^2 = 0,3725$

Ecart type : $\sqrt{0,3725} = 0,610$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION
DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT
A LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR DIA-
METRE, APRES VINGT-HUIT INJECTIONS DE SOLUTION
CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « H ».

TABLEAU 115

Données expérimentales			Equation de la courbe	
m = 7,32			P % = 81,965 f (t)	
s = 0,610			t = 1,64 (x — 7,32)	
1/s = 1,64			$f(t) = 1 / \sqrt{2\pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
Diamètres mesurés en microns x	(x — 7,32)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
9	1,68	2,7552	0,0091	0,74
8,5	1,18	1,9352	0,0620	5,08
8	0,68	1,1152	0,2155	17,66
7,5	0,18	0,2952	0,3825	31,35
7,32	0	0	0,3989	32,70

ETUDE STATISTIQUE DE LA PREMIERE POPULATION D'HEMATIES, DETERMINEE PAR LE TEST DE RESISTANCE A L'HYPOTONIE, APRES VINGT-HUIT INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « H ».

TABLEAU 116

NaCl g/l	Fréquence f.	Ecart x sur moyenne arbitraire en g/l	Produit f. x	Produit f. x ²
6,5	0			
6	2	+ 5	+ 10	50
5,5	2	+ 4	+ 8	32
5	4	+ 3	+ 12	36
4,5	20	+ 2	+ 40	80
4	28	+ 1	+ 28	28
3,5	32	0	0	0
3	6	— 1	— 6	6
2,5	2	— 2	— 4	8
2	2	— 3	— 6	18
1,5	0			
1	 2	(2 ^e population)		
Total	98		+ 82	258

Résultats en données abrégées

Moyenne : $82 / 98 = 0,83$

Terme C : $(82)^2 / 98 = 68,61$

Somme des carrés :

$$258 - 68,61 \neq 190$$

Variance : $190 / 97 = 1,95$

Résultats en données originales

Moyenne :

$$3,50 + (0,83 \times 0,5) = 3,91$$

Variance : $1,95 \times (0,5)^2 = 0,48$

Ecart type : $\sqrt{0,48} = 0,691$

DETERMINATION DES DONNEES POUR LA CONSTRUCTION DE LA COURBE DE LAPLACE-GAUSS CORRESPONDANT A LA DISTRIBUTION DES HEMATIES SUIVANT LEUR RESISTANCE A L'HYPOTONIE, APRES VINGT-HUIT INJECTIONS DE SOLUTION CONCENTREE DE DIGITONOSIDE. LAPIN « H ».

TABLEAU 117

<i>Données expérimentales</i>			<i>Equation de la courbe</i>	
m = 3,91			P % = 72,47 f (t)	
s = 0,691			t = 1,44 (x — 3,91)	
1 / s = 1,4472			f (t) = $1 / \sqrt{2 \pi} \times e^{-\frac{t^2}{2}}$	
NaCl g/l x	(x — 3,91)	t calculé	f (t) d'après les tables de LAPLACE-GAUSS	P % calculé
5,5	1,59	2,3010	0,0283	2,05
5	1,09	1,5774	0,1163	8,42
4,5	0,59	0,8538	0,2780	20,14
4	0,09	0,3024	0,3814	27,64
3,91	0	0	0,3989	28,90

CHAPITRE XIV

ETUDE DE LA CORRELATION ENTRE DEUX CARACTERES

Le problème que nous nous proposons est la recherche d'une liaison entre les variations de deux caractères et quel en est le degré. Par exemple, les fluctuations du diamètre érythrocytaire et de la résistance globulaire à l'hypotonie sont-elles parallèles ? Y a-t-il une corrélation étroite entre la mesure de l'hématocrite et la numération des globules rouges ? Il faut donc mesurer, autant que possible, la liaison entre les deux variables, même si elle est évidente, et, à plus forte raison si elle est discrète et incertaine. Diverses techniques permettent de le faire ; citons le calcul du coefficient de corrélation « r » qui est très usité. A titre d'exemple nous avons établi en détail plusieurs tableaux permettant son obtention, que nous présentons selon les indications de VESSERAU (146).

La corrélation reste comprise entre 2 limites : elle peut être positive et parfaite ($r = + 1,00$) ou négative et parfaite ($r = - 1,00$) si, à chaque augmentation du caractère x , correspond une diminution proportionnelle du caractère y . Elle peut être nulle si, entre 2 variables, il n'y a pas de liaison, si l'une varie indépendamment de l'autre.

Si la corrélation est nulle, la connaissance de x ne nous renseigne aucunement sur y . Si elle est parfaite, $r = 1$, il y a une liaison fonctionnelle et il suffit de connaître x pour déterminer y avec une précision absolue. Mais en dehors de ces cas extrêmes, il ne peut y avoir qu'une « liaison stochastique », un rapport de probabilité : connaissant x , on « estimera » la valeur correspondante d' y , mais avec une marge d'incertitude.

Les calculs ne sauraient cependant se suffire à eux-mêmes (96). Des corrélations remarquables ont pu être trouvées entre des phénomènes qui, apparemment, ne présentaient aucun lien de parenté. Le coefficient de corrélation n'exprime qu'une probabilité de liaison entre les phénomènes étudiés. Une corrélation ne peut être considérée comme scientifiquement établie que lorsqu'une explication rationnelle a été fournie.

Quand on est certain d'une corrélation entre deux phénomènes, le calcul de « r » présente un certain intérêt. Selon SCHREIDER (139), le carré du coefficient de corrélation « coïncide » avec la fraction de la variance totale d'un caractère qui est liée aux fluctuations de l'autre. Si $r = 0,50$ un quart seulement ($r^2 = 0,25$) des variations restent, pour ainsi dire, hors de la corrélation.

Autrement dit, les variations de « y » sont, pour une large part, indépendantes de celles de « x », en dépit du fait que la corrélation puisse être considérée comme forte.

1 — Etude du nombre des globules rouges :

CORRELATION ENTRE HEMATOCRITE ET NOMBRE DES GLOBULES ROUGES AVANT INJECTIONS.

TABLEAU 118

Lapins	Hé- matocrite x	Numé- ration y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
K	390	453	— 4	16	— 64	4 096	+ 256
E	350	515	— 44	1 936	— 2	4	+ 88
A	470	685	+ 76	5 776	+ 168	28 224	+ 12 768
G	395	570	+ 1	1	+ 53	2 809	+ 53
D	348	412	— 46	2 116	— 105	11 025	+ 4 830
C	368	499	— 26	676	— 18	324	+ 468
J	445	620	+ 51	2 601	+ 103	10 609	+ 5 253
B	440	508	+ 46	2 116	— 9	81	— 414
F	360	454	— 34	1 156	— 63	3 969	+ 2 142
H	375	454	— 19	361	— 63	3 969	+ 1 197
Total	3 941	5 170		16 755		65 110	+ 26 641
Moyenne	M = 394	m = 517	$r = \frac{+ 26 641}{\sqrt{65 110 \times 16 755}} = + 0.80$				

CORRELATION ENTRE HEMATOCRITE ET NOMBRE DE GLOBULES ROUGES APRES INJECTIONS.

TABLEAU 119

Lapins	Hé- matocrite x	Nombre des G. R. y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
A	220	342	— 89	7 921	— 108	11 664	+ 9 612
G	270	332	— 39	1 521	— 118	13 924	+ 4 602
D	360	545	+ 51	2 601	+ 95	9 025	+ 4 845
C	315	490	+ 6	36	+ 40	1 600	+ 240
J	370	587	+ 61	3 721	+ 137	18 769	+ 8 357
B	315	470	+ 6	36	+ 20	400	+ 120
F	300	421	— 9	81	— 29	841	+ 261
H	320	430	+ 11	121	— 20	400	— 220
Total	2 470	3 617		16 038		56 623	+ 27 817
Moyenne	M = 309	m = 450	$r = \frac{+ 27 817}{\sqrt{16 038 \times 56 623}} = + 0.92$				

CORRELATION ENTRE HEMOGLOBINE ET NOMBRE DE GLOBULES ROUGES AVANT INJECTIONS.

TABLEAU 120

Lapins	Hémo- globine x	Numé- ration y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
K	1 365	453	+ 65	4 225	— 64	4 096	— 4 160
E	1 310	515	+ 10	100	— 2	4	— 20
A	1 460	685	+ 160	25 600	+ 168	28 224	+ 26 880
G	1 270	570	— 30	900	+ 53	2 809	— 1 590
D	1 120	412	— 180	32 400	— 105	11 025	+ 18 900
C	1 200	499	— 100	10 000	— 18	324	+ 18 000
J	1 390	620	+ 90	8 100	+ 103	10 609	+ 9 270
B	1 500	508	+ 200	40 000	— 9	81	— 18 000
F	1 230	454	— 70	490	— 63	3 969	+ 4 410
H	1 230	454	— 70	490	— 63	3 969	+ 4 410
Total	13 075	5 170		122 305		65 110	+ 58 100
Moyenne	M = 1300	m = 517	$r = + 0,65$				

CORRELATION ENTRE HEMOGLOBINE ET NOMBRE DE GLOBULES ROUGES APRES INJECTIONS.

TABLEAU 121

Lapins	Hémo- globine x	G. R. y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
A	750	342	— 251	63 001	— 108	11 664	+ 27 108
G	750	332	— 251	63 001	— 118	13 924	+ 29 618
D	1 200	545	+ 199	39 601	+ 95	9 025	+ 18 905
C	1 200	490	+ 199	39 601	+ 40	1 600	+ 7 960
J	1 080	587	+ 79	6 241	+ 137	18 769	+ 10 823
B	1 080	470	+ 79	6 241	+ 20	400	+ 1 580
F	975	421	— 26	676	— 29	841	+ 754
H	975	430	— 26	676	— 20	400	+ 520
Total	8 010	3 617		219 038		56 623	+ 97 268
Moyenne	M = 1 001	m = 450	$r = + 0,87$				

*CORRELATION ENTRE HEMATOCRITE ET DIAMETRE
AVANT INJECTIONS*

TABLEAU 122

Lapins	Hé- mato- crite x	Diamètre y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
E	350	651	— 35	1 225	+ 4	16	— 140
G	395	625	+ 10	100	— 22	484	— 220
D	348	641	— 37	1 369	— 6	36	+ 222
C	368	678	— 17	289	+ 31	961	— 527
J	445	658	+ 60	3 600	+ 11	121	+ 660
B	440	645	+ 55	3 025	— 2	4	— 110
F	360	655	— 25	625	+ 8	64	— 200
H	375	623	— 10	100	— 24	576	+ 240
Total	3 081	5 176		10 333		2 262	— 75
Moyenne	M = 385	m = 647				— 75	

$$r = \frac{-75}{\sqrt{10\,333 \times 2\,262}} = -0.01$$

*CORRELATION ENTRE HEMATOCRITE ET DIAMETRE
APRES INJECTIONS*

TABLEAU 123

Lapins	Hé- mato- crite x	Diamètre y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
G	270	685	— 51	2 601	+ 16	256	— 816
D	360	657	+ 39	1 521	— 12	144	— 468
C	315	661	— 6	36	— 8	64	+ 48
J	370	638	+ 49	2 401	— 31	961	— 1 519
B	315	635	— 6	36	— 34	1 156	+ 204
F	300	679	— 21	441	+ 10	100	— 210
H	320	732	— 1	1	+ 63	3 969	— 63
Total	2 250	4 687		7 037		6 650	— 2 824
Moyenne	M = 321	m = 669					

$$r = -0.41$$

2 — Etude de la résistance osmotique :

*CORRELATION ENTRE DIAMETRE ET RESISTANCE
GLOBULAIRE A L'HYPOTONIE AVANT INJECTIONS*

TABEAU 124

Lapins	Diamètre x	Résistance y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
E	651	574	+ 4	16	+ 38	1 444	+ 152
G	625	489	— 22	484	— 47	2 209	+ 1 034
D	646	529	— 6	36	— 7	49	+ 42
C	678	527	+ 31	961	— 9	81	— 279
J	658	506	+ 11	121	— 30	900	— 330
B	645	510	— 2	4	— 26	676	+ 52
F	655	583	+ 8	64	+ 47	2 209	+ 376
H	623	571	— 24	576	+ 35	1 225	— 840
Total	5 181	4 289		2 262		8 793	+ 207
Moyenne	M = 647	m = 536					

$$r = \frac{207}{\sqrt{8\,793 \times 2\,262}} = + 0,07$$

*ETUDE DU MEME COEFFICIENT DE CORRELATION
APRES INJECTIONS*

TABEAU 125

Lapins	Diamètre x	Résistance y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
G	685	549	+ 15	225	+ 36	1 296	+ 540
D	657	608	— 13	169	+ 95	9 025	— 1 235
C	661	604	— 9	81	+ 91	8 281	— 819
J	638	460	— 32	1 024	— 53	2 809	+ 1 696
B	635	486	— 35	1 225	— 27	729	+ 945
F	679	498	+ 9	81	— 15	225	— 135
H	732	391	+ 62	3 844	— 122	14 884	— 7 564
Total	4 687	3 596		6 649		37 249	— 6 572
Moyenne	M = 707	m = 513					

$$r = \frac{- 6\,572}{\sqrt{6\,649 \times 37\,249}} = - 0,13$$

*CORRELATION ENTRE LA RESISTANCE OSMOTIQUE
ET L'INDICE DE SPHERICITE APRES INJECTIONS*

TABEAU 126

Lapins	Résistance osmotique x	Indice de sphéricité y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
G	549	48	+ 36	1 296	+ 4	16	+ 144
D	608	44	+ 95	9 025	0	0	0
C	604	42	+ 91	8 221	— 2	4	— 182
J	460	46	— 53	2 809	+ 2	4	— 106
B	486	50	— 27	729	+ 6	36	— 162
F	498	43	— 15	225	— 1	1	+ 15
H	391	36	— 122	14 884	— 8	64	+ 976
Total	3 596	309		37 249		125	+ 685
Moyenne	M = 513	m = 44	$r = \frac{+ 685}{\sqrt{37\,249 \times 125}} = + 0,68$				

*CORRELATION RETICULOCYTES — RESISTANCE
OSMOTIQUE APRES INJECTIONS*

TABEAU 127

Lapins	Réticu- locytes x	Résistance osmotique y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
G	73	549	— 68	4 624	+ 36	1 296	— 2 448
D	47	608	— 94	8 836	+ 95	9 025	— 8 930
C	18	604	— 123	15 129	+ 91	8 281	— 11 193
J	80	460	— 61	3 721	— 53	2 809	+ 3 235
B	64	486	— 77	5 929	— 27	729	+ 2 079
F	110	498	— 31	961	— 15	225	+ 465
H	600	391	+ 459	210 681	— 122	14 884	— 55 998
Total	992			249 881		37 249	— 72 790
Moyenne	M = 141	m = 513	$r = \frac{- 72\,790}{\sqrt{249\,881 \times 37\,249}} = - 0,754$				

3 — Etude de la moelle :

CORRELATION ENTRE LE TAUX DE FER SÉRIQUE ET LE NOMBRE DE SIDEROBLASTES PAR MILLIMÈTRE CUBE DE MOELLE, APRES INJECTIONS.

TABLEAU 128

Lapins	Fer sérique x	Sidéro- blastes y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
G	1 700	18	+ 166	27 556	— 19	361	— 3 154
J	1 630	21	+ 96	9 216	— 16	256	— 1 536
H	1 540	23	+ 6	36	— 14	196	— 84
F	1 340	32	— 194	37 636	— 5	25	+ 970
C	1 460	91	— 74	5 476	+ 54	2 916	— 3 996
Total	7 670	185		79 920		3 754	— 7 800
Moyenne	M = 1 534	m = 37	— 7 800				

$$r = \frac{-7\,800}{\sqrt{79\,920 \times 3\,754}} = -0,45$$

CORRELATION ENTRE LE NOMBRE DE LYMPHOCYTES DU SANG PÉRIPHÉRIQUE ET LE NOMBRE D'ÉLÉMENTS NUCLEÉS DE LA MOELLE APRES INJECTIONS.

TABLEAU 129

Lapins	Diminut. du nombre des lym- phocytes avant et après in- jections : x	Eléments nucléés de la moelle par mm ³ y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
A	— 32,5	670	— 16,9	285,61	— 88	7 744	+ 1 487,2
G	— 22,5	187	— 6,9	47,61	— 571	326 041	+ 3 939,9
D	— 18,7	500	— 3,1	9,61	— 258	66 564	+ 799,8
C	— 0,5	1 355	+ 16,1	259,21	+ 597	356 409	+ 9 611,7
J	— 34,5	806	— 18,9	357,21	+ 48	2 304	— 907,2
B	+ 18,0	1 260	+ 33,6	1 128,96	+ 502	252 004	+ 16 867,2
F	— 26,0	675	— 10,4	108,16	— 83	6 889	+ 863,2
H	— 8,3	610	+ 7,3	53,29	— 148	21 904	— 1 080,4
Total	— 125,0	6 063		2 249,66		1 039 859	+ 31 581,4
Moyenne	M = — 1,56	m = 758	+ 31 581,4				

$$r = \frac{+31\,581,4}{\sqrt{2\,249,66 \times 1\,039\,859}} = +0,65$$

*CORRELATION ENTRE RETICULOCYTES
ET DIAMETRES APRES INJECTIONS*

TABLEAU 130

Lapins	Réticu- locytes x	Diamètre y	Ecart à la moyenne (x — M)	Carré des écarts (x — M) ²	Ecart à la moyenne (y — m)	Carré des écarts (y — m) ²	Produit (x-M) (y-m)
G	73	685	- 68	4 624	+ 16	256	1 088
D	47	657	- 94	8 836	- 12	144	+ 1 128
C	18	661	- 123	15 129	- 8	64	+ 984
J	80	638	- 61	3 721	- 31	961	+ 1 891
B	64	635	- 77	5 929	- 34	1 156	+ 2 618
F	110	679	- 31	961	+ 10	100	- 310
H	600	732	+ 459	210 681	- 63	3 969	+ 28 917
Total	992	4 687		249 881		6 650	+ 34 140
Moyenne	M = 141	m = 669	$r = \frac{+ 34\ 140}{\sqrt{249\ 881 \times 6\ 650}} = + 0.84$				

Calculs :

$$\log_{10} 249\ 881 \# 5,39777$$

$$\log_{10} 34\ 140 = 4,53\ 326$$

$$\log_{10} 6\ 650 \# 3,82282$$

$$\text{Somme } 9,22059 \text{ divisé par } 2 = 4,61030$$

$$\text{dont colog} = 5,38\ 970$$

$$\text{Somme} = 1,92\ 296$$

$$\text{d'où : } r = 0.84$$

VALEUR SIGNIFICATIVE DU COEFFICIENT DE CORRELATION (96)

Si la liaison entre deux caractères avait été étudiée sur d'autres échantillons dans les mêmes conditions d'expériences, il est vraisemblable que la valeur trouvée pour le coefficient de corrélation eût été légèrement différente.

Tout coefficient de corrélation calculé à partir d'un échantillon comporte, en effet, une zone d'indétermination, d'autant moins large que l'effectif de l'échantillon est plus important. Théoriquement, c'est donc seulement en étendant le calcul à une population infinie que l'on pourrait supprimer cette marge d'erreur, et déterminer la « valeur vraie » du coefficient de corrélation, exprimant, dans l'absolu, le degré de liaison linéaire entre les deux caractères. Un échantillon ne peut fournir qu'une « estimation » de la valeur vraie ; la détermination exacte demeure inaccessible, mais il est possible de l'enserrer dans une zone plus ou moins étroite : il est donc indispensable de délimiter cette zone.

Les estimations trouvées du coefficient de corrélation ne se distribuent pas autour de la valeur vraie suivant une loi de Gauss (contrairement aux estimations des moyennes). Les travaux de Fisher ont permis de résoudre ce problème. Comme les calculs sont assez longs, il est plus simple de se servir de l'abaque ci-après qui fournit immédiatement le résultat.

Technique d'utilisation de l'abaque :

Exemple : corrélation entre hématocrite et numération globulaire avant injections.

Si $r_1 = 0,8$ est la valeur du coefficient de corrélation calculée à partir de $n = 10$ (page 287) on portera :

- sur l'échelle de gauche, le point A correspondant à r_1 ;
- sur l'échelle de droite (échelle double, symétrique par rapport au point $n = \infty$), les points B' et B'' correspondent à la valeur de n .

En joignant le point A aux points B' et B'', on coupe l'échelle du milieu aux points C' et C''. Il y a 95 chances sur 100 pour que la valeur vraie soit comprise entre ces deux limites et nous concluons qu'elle est nécessairement positive.

Autre exemple : corrélation entre hématocrite et diamètre (page 289).

$r = -0,01$ avec $n = 10$. Le segment C' C'' englobe la valeur 0 ; il y a donc trois hypothèses possibles : corrélation négative, indépendante ou positive.

Pour départager les trois hypothèses, il faut procéder à un échantillonnage plus important.

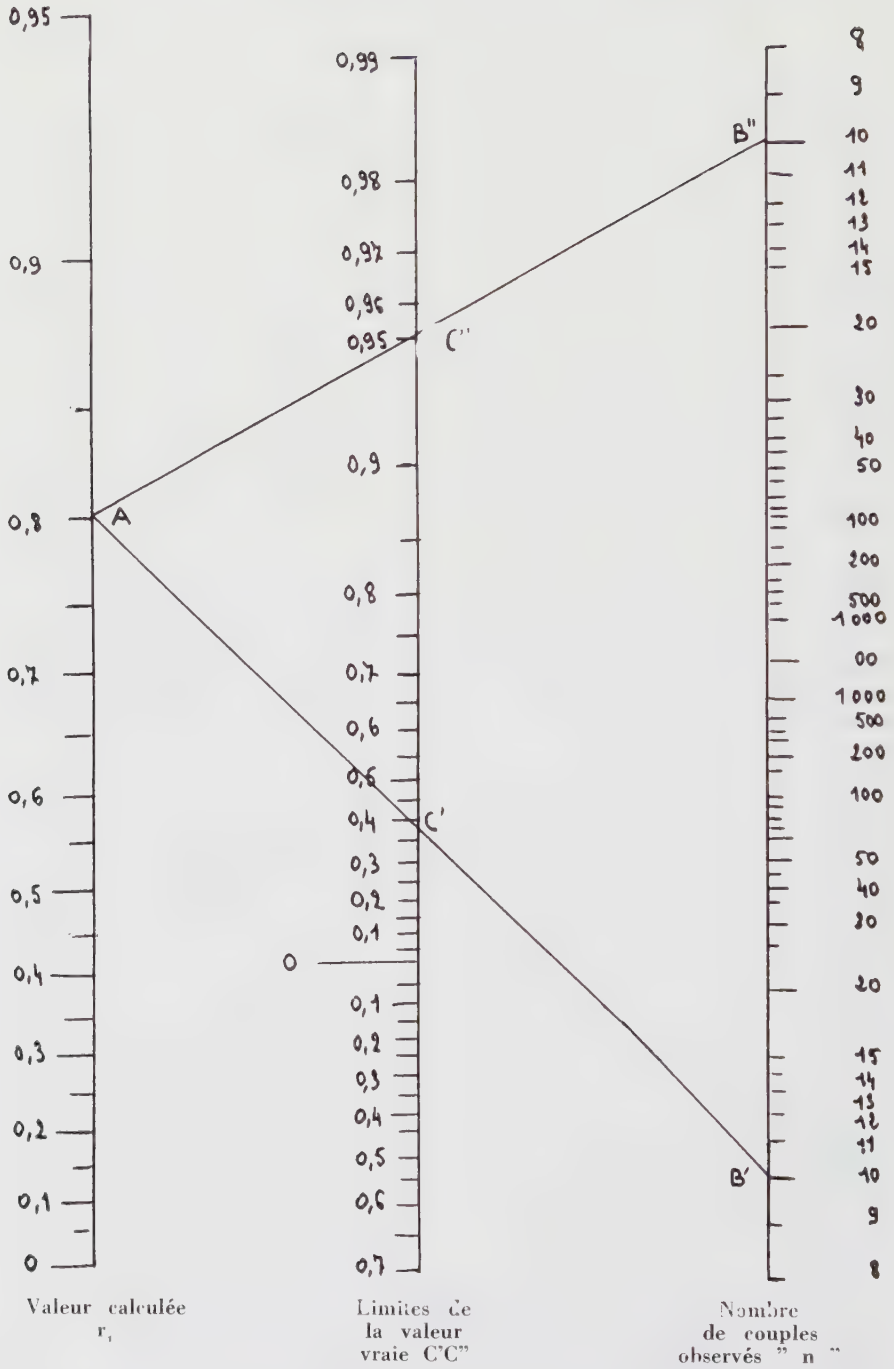


FIG. 98

Conclusion :

Il est donc essentiel, chaque fois que l'on calcule un coefficient de corrélation, de rechercher si sa valeur est significative, c'est-à-dire si le segment C' C'' ne contient pas le point O de l'échelle centrale.

L'examen de l'abaque montre qu'une valeur faible du coefficient de corrélation ne peut être significative que si elle provient d'un échantillon important ; par contre, une valeur élevée peut être significative, alors que l'échantillon se limite à quelques couples. Avec $n = 10$, la valeur $r_1 = 0,80$ est largement significative.

Examinons le cas des expériences faites avec le digitonoside.

Supposons $n = 10$.

Joignons le point B' ($n = 10$) de l'échelle de droite au point O de l'échelle centrale et continuons jusqu'à l'échelle de gauche : le point de rencontre A est situé aux environs de 0,65. En conséquence toute valeur inférieure à ce chiffre ne peut être significative théoriquement.

Indice de covariation :

Comme l'indice de corrélation est long à établir on peut, dans certains cas, rechercher rapidement s'il y a un lien entre 2 caractères, par le calcul très simple de l'indice de covariation.

L'indice de covariation tient exclusivement compte du nombre et du sens des écarts ; il ne fournit donc qu'une expression peu nuancée du degré de liaison. Si l'on désigne par « c » le nombre des concordances, par « d » celui des discordances :

$$\text{Indice de covariation } I = \frac{c - d}{c + d}$$

Exemple — Etude de l'hématocrite et de la numération globulaire avant injections :

$$\begin{array}{lcl} c = 9 & & 8 \\ d = 1 & I = \frac{\quad}{\quad} = 0,8 & 10 \end{array}$$

Une valeur élevée de ce coefficient n'apporte qu'une simple présomption de liaison et il convient de soumettre les résultats à une sévère critique. Nous avons souvent calculé la valeur de l'indice de corrélation après avoir établi au préalable l'indice de covariation.

Discussion :

Les corrélations sont souvent faibles en Biologie et pour concrétiser la valeur d'un coefficient de $+ 0,30$ dans ce domaine biologique, nous citons les trois exemples suivants empruntés à PEARL par GILLON (67) :

Poids du corps et stature	$r = + 0,396$
Indice céphalique (frères et sœurs)	$r = + 0,332$
Température buccale et pulsations	$r = + 0,288$

Citons aussi l'indice calculé par cet auteur sur les hémogrammes de 250 ouvriers entre le nombre de leucocytes et la proportion des polynucléaires :

$$r = + 0,312$$

La valeur de cet indice permet à GILLON de conclure que la leucocytose s'accompagne habituellement d'une augmentation du pourcentage des polynucléaires.

Comme nous avons déterminé nos indices sur quelques expériences seulement, nous avons calculé la corrélation entre caractères dont nous savons pertinemment la dépendance chez un animal normal, afin d'apprécier les valeurs que nous trouverons dans nos conditions d'expériences. Nous prendrons comme terme de comparaison l'indice de corrélation entre le taux d'hématocrite et le nombre de globules rouges chez un lapin normal ($r = + 0,80$).

Conclusions :

La détermination des indices de corrélation nous révèle :

1) Sang périphérique :

— la corrélation entre le taux d'hématocrite et le nombre de globules rouges est élevée chez des animaux intoxiqués par le digitonose et l'indice est sensiblement le même entre le taux d'hémoglobine et la numération globulaire ; il atteint une valeur voisine de 0,9 dans les deux cas. Nous trouvons ici la justification de l'emploi de l'une des deux techniques (mesure du taux d'hématocrite ou dosage de l'hémoglobine) pour suivre l'anémie provoquée chez nos lapins expérimentés.

— l'étude de la corrélation entre l'hématocrite et le diamètre moyen après injections, nous apporte la preuve manifeste de la platycytose que nous déterminons chez nos animaux. Chez un lapin normal, il n'y a aucune corrélation entre ces deux caractères ($r = - 0,01$). A la fin de nos expériences, la valeur négative assez élevée de $- 0,41$ nous prouve que le diamètre érythrocytaire augmente tandis que le volume de l'hématie diminue.

— la liaison entre le diamètre moyen et la résistance globulaire moyenne à l'hypotonie est très faible aussi bien chez l'animal normal que chez l'animal anémié, puisque l'indice a une valeur voisine de $+ 0,1$ dans les deux cas. Cette constatation démontre l'intérêt de l'emploi simultané de ces deux techniques qui donnent des renseignements complémentaires sur la population érythrocytaire examinée ; elle démontre aussi l'impossibilité de déduire la valeur du diamètre moyen quand on connaît la fragilité osmotique moyenne de l'érythrocyte.

La résistance globulaire est surtout influencée par l'état sphérocytaire du globule ($r = + 0,68$) et le taux de réticulocytes ($r = + 0,75$).

Par comparaison avec l'hématocrite le diamètre moyen nous renseigne comme nous l'avons dit sur l'existence des platycytes ; il nous donne en plus une indication précise de l'âge de la population éry-

throcytaire par sa liaison étroite avec le taux des réticulocytes ($r = + 0,84$).

Quand une courbe de résistance globulaire à l'hypotonie est normale, la courbe diamétrale est aussi normale, mais il n'est pas possible d'en déduire le degré d'anisocytose.

Nous avons trouvé chez les lapins normaux une certaine corrélation entre le coefficient d'anisocytose et le coefficient de variation « B », mais sa valeur est seulement de $+ 0,25$. Enfin à une courbe de fragilité osmotique anormale correspond toujours une courbe de Price-Jones anormale.

2) Moelle osseuse :

— Il y a une liaison certaine entre le taux de fer sérique et le nombre de sidéroblastes par millimètre cube de moelle ($r = - 0,54$) ; cette valeur négative assez élevée nous confirme qu'il existe un équilibre dynamique entre le fer ferritique et le fer plasmatique véhiculé par la transferrine (BESSIS, 14) de nos lapins anémiés.

— Nous avons enfin trouvé que dans le cadre de notre expérimentation la lymphocytose du sang périphérique est un signe d'hypertrophie fonctionnelle de la moelle, puisque le pourcentage de lymphocytes de l'hémogramme est en liaison assez étroite avec le nombre d'éléments nucléés de la moelle par millimètre cube ($r = + 0,65$).

CONCLUSIONS GENERALES

I — PARTIE TECHNIQUE

Nous avons étudié plusieurs techniques au cours de la première partie de notre travail :

a/ RESISTANCE GLOBULAIRE A L'HYPOTONIE

Nous mesurons la résistance osmotique des hématies de lapin à la température du laboratoire et toujours avec la même quantité de sang total que nous prélevons sur héparine et que nous conservons au réfrigérateur à $+ 4^{\circ}$, si nous ne pouvons pas pratiquer la réaction immédiatement.

Nous effectuons un dosage électrocolorimétrique de l'hémoglobine, qui a été libérée dans chaque tube de la réaction, après trente minutes de repos.

b/ NUMERATION GLOBULAIRE

Nous avons réalisé un montage optique qui nous permet de fixer, sur un papier positif 13×18 cm, l'image des globules rouges et en même temps celle du quadrillage de la cellule hématimétrique. Il est possible de prendre des photographies individuelles en quelques minutes et à la lumière du laboratoire.

Etudiant la répartition des érythrocytes sur une cellule hématimétrique par l'établissement de quelques courbes de distribution, nous pensons qu'un décompte de mille hématies est suffisant pour que la distribution des érythrocytes suive approximativement la loi de POISSON et nous constatons que l'obtention de deux résultats consécutifs identiques n'est pas la preuve d'un chiffre exact de numération.

c/ DIAMETRE ERYTHROCYTAIRE

Nous proposons deux méthodes.

La première est basée sur le calcul des probabilités ; nous la signalons parce qu'elle peut être à l'origine d'une détermination automatique du diamètre moyen.

La seconde est une méthode de détermination du diamètre érythrocytaire par planimétrie sur microphotographie. Elle conduit à des résultats plus précis que ceux des méthodes courantes et elle rend toujours possible d'établissement d'une courbe de Price-Jones, même en cas de poïkilocytose.

II — RESULTATS EXPERIMENTAUX

I ETUDE HEMATOLOGIQUE DU LAPIN ADULTE NORMAL

Les éléments cellulaires du sang et de la moelle osseuse du lapin se comportent dans l'ensemble comme ceux des autres mammifères, en général, et notamment de l'homme.

Sang périphérique :

L'étude du sang de lapin adulte, à partir du sixième mois, comprend les caractéristiques suivantes :

- le nombre des plaquettes sanguines est de l'ordre de 500 000 par millimètre cube ;
- le taux des leucocytes est de 7 000 par millimètre cube avec des chiffres extrêmes de 5 060 et 11 730 ;
- le nombre des globules rouges s'élève à 5 370 000 avec une variabilité allant de 4 120 000 à 7 330 000 par millimètre cube ;
- l'hématocrite a une valeur moyenne de 39,8 p. 100 ;
- le taux d'hémoglobine est de 130 grammes par litre ;
- l'hémolyse commence généralement pour des concentrations en chlorure de sodium de 7,0 g/l ; elle est totale pour des concentrations de 3 g/l ; et 85 p. 100 des hématies sont hémolysées pour des concentrations comprises entre 4,50 et 6 g/l.

Si nous calculons les moyennes des paramètres qui définissent les courbes de résistance globulaire de chaque animal, nous trouvons que la résistance moyenne est de 5,36 g/l, que l'écart type moyen est de 0,55 et que le coefficient de variation « B » a pour valeur 10.26 p. 100.

Nous admettons que la résistance globulaire moyenne normale a une valeur comprise entre 4,85 g/l et 5,85 g/l et que le coefficient normal de variation est inférieur à 13 p. 100.

- le diamètre érythrocytaire moyen est de 6,47 microns et 95 p. 100 des hématies ont un diamètre compris entre 5,5 et 7 microns. Parmi elles, 40 p. 100 mesurent 6,5 microns ; 25 p. 100 ont un diamètre de 6 microns et 25 p. 100 un diamètre de 7 microns.

Les caractéristiques de l'hématie du lapin sont les suivantes :

Schizocytes :	2,6 à 3,5 microns
Microcytes :	3,5 à 5,5 microns
Normocytes :	5,5 à 7,5 microns
Macrocytes :	7,5 à 9,0 microns

Nous admettons aussi que le coefficient d'anisocytose est normal entre 7,10 et 7,80 p. 100 et quand il dépasse cette dernière valeur nous déterminons le type d'anémie en nous basant sur la valeur du diamètre moyen. Si le diamètre moyen est compris entre 6,22 et 6,79 microns il y a anisonormocytose ; au-dessous de 6,22 microns il y a

anisomicrocytose et au-dessus de 6,79 microns il y a anisomacrocytose ou anisomégalocytose.

— l'hématie normale a un indice de sphéricité compris entre les valeurs extrêmes de 0,45 et 0,65 avec une valeur moyenne de 0,54. Au-dessous de 0,45 il y a platycytose et au-dessus de 0,65 il y a sphérocytose.

Moelle osseuse :

Le nombre des éléments nucléés de la moelle est de 570 000 par millimètre cube, dont 45 000 sont des sidéroblastes.

La grande variabilité que l'on constate dans certains résultats peut être attribuée en partie à des causes d'erreurs statistiques générales, à la provenance de l'animal et à des facteurs climatiques ; pour étudier la lignée rouge nous pensons que, dans des examens en série, il est possible de définir la normalité d'un individu par trois épreuves rapides et précises : détermination de la quantité d'hémoglobine, mesure du taux d'hématocrite et comparaison de la courbe de résistance globulaire à l'hypotonie avec une courbe normale ; un seul prélèvement sur héparine suffit et si ces examens révèlent une anomalie, l'étude des autres tests hématologiques permettront ensuite de la préciser. Notons que si la courbe de résistance globulaire est normale, la courbe diamétrale est normale, mais qu'il n'est pas possible d'en déduire la valeur du diamètre moyen et le degré d'anisocytose. La liaison entre le diamètre moyen et la résistance globulaire moyenne est très faible et l'indice de corrélation a une valeur de + 0,07. Nous trouvons aussi une faible corrélation entre le coefficient d'anisocytose « A » et le coefficient de variation « B » ($r = + 0,25$).

2/ ETUDE HEMATOLOGIQUE DU LAPIN ADULTE APRES INTOXICATION PAR LE DIGITONOSIDE

L'intoxication provoquée par des doses faibles et répétées de digitonoside, est une panmyélopathie généralement caractérisée, à son début, par une hyperplasie médullaire qui évolue ensuite vers une aplasie.

Dans le sang périphérique l'hématie normale évolue vers le placyte, érythrocyte dont les caractéristiques sont celles du lapin H :

- 1) une faible épaisseur, comme le prouve un indice de sphéricité de 0,36 ;
- 2) un diamètre augmenté d'environ un micron ; nous trouvons que le diamètre moyen a une valeur de 7,3 microns et nous n'observons pas de diamètre supérieur à 8,5 microns ;
- 3) une résistance globulaire à l'hypotonie augmentée ; nous déterminons une résistance moyenne de 3,91 g/l, valeur exprimée en concentration de chlorure de sodium.

L'étude des animaux intoxiqués par le digitonoside nous permet de constater qu'un syndrome diarrhéique est toujours possible (lapin E) mais rare, et qu'une action du toxique sur les reins ne se

produit pas dans nos conditions d'expériences. De petites doses de digitonoside en injections intraveineuses déterminent une hypercoagulabilité du sang susceptible de provoquer une thrombose (lapin J) qui est mortelle dans certaines conditions (lapin I).

Nous remarquons que les variations de poids des animaux sont significatives : les injections intraveineuses de digitonoside déterminent une perte de poids qui est presque toujours compensée par une augmentation due à la régénération sanguine ; il en résulte un gain d'environ cent grammes, signe d'une réaction médullaire ; une diminution de poids est un indice d'hypoplasie (lapin G) tandis qu'une augmentation permet de supposer une hyperplasie de la moelle osseuse.

L'ETUDE DU SERUM NOUS APPREND :

Fer sérique :

Dans l'intoxication au digitonoside, on observe les valeurs les plus élevées de fer sérique dans les périodes de destruction érythrocytaire sans régénération sanguine ou avant qu'elle ne se soit manifestée (lapin G). Dans les autres cas le taux de fer sérique est variable. En effet se contrebalancent l'hypersidérémie dûe à la destruction des hématies et l'hyposidérémie que provoque l'active régénération globulaire.

Cholestérol (cf p. 222) :

L'hypercholestérolémie que nous observons dans tous les cas étudiés est une réaction de défense de l'organisme pour protéger ses hématies. L'hypercholestérolémie n'est pas un signe d'intoxication par la digitonoside avec formation « in vivo » d'un complexe inactif : c'est un signe, qui semble constant, de spoliation érythrocytaire qui peut succéder à une simple hémorragie.

L'EXAMEN DU SANG PÉRIPHÉRIQUE NOUS RÉVÈLE :

Les plaquettes (cf p. 208) :

Les thrombocytes sont détruits par le digitonoside et une diminution importante de leur nombre entraîne des hémorragies internes ; il faut attendre leur régénération, consécutive à une hyperplasie médullaire, pour que les hématies puissent accuser un début d'augmentation de leur nombre dans le sang périphérique.

Après une destruction massive, le nombre des plaquettes atteint un maximum bien au-dessus de la normale, par hypercompensation pathologique ; il revient ensuite au nombre habituel chez l'animal en survie.

A la suite d'injections répétées de digitonoside le nombre des plaquettes suit en général les mêmes variations, mais le phénomène est plus complexe, la régénération plaquettaire étant contrariée par des destructions successives et des réactions variées de la moelle.

La lignée blanche (cf p. 208) :

Les leucocytes subissent des variations qui sont toujours dans les limites normales ; elles ne sont pas nécessairement parallèles à celles des hématies, ni à celles des plaquettes et il est difficile de déterminer l'action du digitonoside sur le nombre des globules blancs.

Nous observons cependant :

— chez un animal (D) une leucocytose avec augmentation des éléments de toutes les lignées à la fois : plaquettaire, leucocytaire, et érythrocytaire ; elle est consécutive à une hyperplasie médullaire réelle mais rendue inapparente par le départ des éléments de la moelle osseuse.

— Nous observons une leucocytose et thrombocytose chez un autre lapin (J) mais nous constatons une légère diminution des érythrocytes dont le nombre est néanmoins supérieur à la normale et les éléments nucléés de la moelle que l'on s'attend à trouver très nombreux sont diminués en conséquence.

— Nous constatons une légère leucocytose avec thrombocytopénie importante chez trois animaux (B, G, H) et une légère leucopénie avec hyperplaquettose chez les deux derniers (C et F).

— En général le nombre des polynucléaires neutrophiles augmente au cours des injections et les lymphocytes varient en sens inverse. Chez deux animaux (C et B) nous observons une diminution des polynucléaires neutrophiles et une augmentation du nombre des lymphocytes qui coïncide avec une hyperplasie médullaire très nette. On relève une liaison statistiquement certaine entre la lymphocytose et le nombre d'éléments nucléés de la moelle osseuse ($r = + 0.65$).

La lignée rouge :

Globules rouges :

La corrélation entre le taux d'hématocrite et le nombre des globules rouges est élevée chez des animaux intoxiqués par le digitonoside et l'indice est sensiblement le même entre le taux d'hémoglobine et la numération globulaire ; il atteint une valeur voisine de 0,9 dans les deux cas. Nous trouvons ici la justification de l'emploi de l'une des deux techniques (mesure du taux d'hématocrite ou dosage de l'hémoglobine) pour suivre l'anémie provoquée chez nos lapins expérimentés.

La diminution des globules rouges est un phénomène très complexe ; il existe des alternatives d'augmentation malgré la destruction massive des hématies par le digitonoside. Et si la tendance à la diminution suit une loi exponentielle, il n'en existe pas moins une courbe d'allure sinusoïdale assez régulière avec des maximums et des minimums de l'érythrocytémie.

Nous attribuons la rapide régénération sanguine, consécutive à la destruction des globules par le digitonoside, à différentes causes :

- 1) un phénomène de protection des érythrocytes par le cholestérol ;
- 2) un phénomène de gemmation possible qui permet une érythropoïèse intravasculaire (lapin B) ;

- 3) un phénomène d'hyperplasie médullaire due à une augmentation des mitoses homoplastiques ;
- 4) un mode de reproduction possible par désagrégation du protoplasme de l'érythroblaste acidophile.

Nous expliquons l'allure sinusoïdale de la courbe d'érythrocytémie par l'existence d'une certaine périodicité dans le rythme des mitoses, par l'explication de DOAN pour qui l'aspiration des cellules nucléées de la moelle vers la lumière des capillaires se produit au fur et à mesure que la dilatation rythmée de ces éléments avance et par l'expulsion des éléments nucléés de la moelle qui se fait suivant un phénomène périodique (lapin J).

Nous pensons avec RINGENBACH (134) que les oscillations journalières désordonnées du nombre des hématies sont dues à l'action du système nerveux sympathique sur la rate. La splénocontraction peut être déclenchée par de nombreux facteurs, dont le plus important est l'anoxémie consécutive à la destruction des érythrocytes par le digitonoside.

Etude des populations d'hématies :

En utilisant le test de résistance globulaire à l'hypotonie et les mesures des diamètres nous établissons les courbes de distribution des hématies suivant leur fragilité osmotique et leur diamètre et nous constatons qu'à la suite de l'intoxication par le digitonoside, les hématies forment deux populations :

- 1) la population primitive, existant avant les injections, de diamètre moyen ou petit et responsable de la diminution de la résistance globulaire.
- 2) la nouvelle population, qui arrive de la moelle après le début des injections et qui est la cause de la macrocytose et de l'augmentation de la résistance globulaire.

La proportion des deux populations est fonction de la durée de l'expérimentation.

Nous constatons que l'indice de sphéricité est toujours diminué et qu'il n'y a pas de sphère hémolytique : le digitonoside, comme les autres saponines, n'est pas un hémolysant « in vivo ».

Nous observons généralement une légère diminution de la valeur globulaire qui varie dans les limites normales et nous ne constatons qu'un seul exemple d'hypochromie (lapin J), à un moment d'une phase de repos de la moelle osseuse.

Dans tous les cas, nous observons de la réticulocytose et un nombre élevé de sidérocytes. Chez le lapin H, le plus atteint par l'intoxication à la suite d'un nombre élevé d'injections, une hyperréticulocytose de 60 p. 100 est associée à un chiffre particulièrement élevé de sidérocytes, voisin de un million par millimètre cube.

L'EXAMEN DE LA MOELLE OSSEUSE NOUS RÉVÈLE :

Éléments nucléés :

L'examen des frottis nous montre que l'intoxication par doses faibles de digitonoside ne détermine pas de variations statistiquement significatives du pourcentage des différentes catégories cellulaires, ni d'altération profonde de la morphologie de ces éléments. Nous observons que les trois lignées sont atteintes dans le sang périphérique et l'hyperplasie médullaire en est, en général, la conséquence. Le digitonoside détermine une panmyélopathie.

Rappelons que nous avons établi que la moyenne des éléments nucléés de la moelle osseuse d'un lapin normal est de 570 000 par millimètre cube. A la suite d'une intoxication progressive obtenue par un nombre croissant d'injections de solution concentrée de digitonoside, nous constatons :

— un cas d'hypoplasie médullaire avec le lapin G qui n'a que 187 000 éléments nucléés par millimètre cube ;

— deux exemples d'hypoplasie transitoire : la première est apparente (lapin D) avec 500 000 éléments nucléés, l'autre est en partie dissimulée (lapin J) avec 806 000 éléments ;

— deux hyperplasies importantes (lapins C et B) avec respectivement 1 355 000 éléments et 1 260 000 éléments ;

— enfin nous avons trois exemples d'évolution vers une aplasie médullaire (lapins A, F, H) qui ont respectivement 670 000, 675 000 et 610 000 éléments nucléés par millimètre cube de moelle osseuse.

Sidéroblastes :

A la suite de l'intoxication par le digitonoside nous constatons un équilibre dynamique entre le fer ferritinique et le fer plasmatique ; à un nombre élevé de sidéroblastes par millimètre cube correspond un taux faible de fer sérique et réciproquement.

Nous constatons que le pourcentage de sidéroblastes est un indice de l'âge des éléments nucléés de la moelle ; à un pourcentage faible correspond une phase de renouvellement de la moelle osseuse et les éléments nucléés qui restent sont jeunes dans l'ensemble : les érythroblastes n'ont pas de granulations visibles au microscope optique pour la plupart (lapin J).

La moelle se remplit et se vide de ses éléments nucléés suivant un phénomène rythmique.

Fer extraérythroblastique :

Nous pensons que la diminution du fer extraérythroblastique que nous constatons à la suite de l'intoxication par le digitonoside est

une conséquence de la diminution de la phagocytose des érythrocytes, qui ne s'effectue plus dans la moelle osseuse, puisque les hématies sont détruites directement dans le sang périphérique.

Nous espérons que ce travail montrera les possibilités apportées à l'étude des anémies par la mesure des résistances globulaires à l'hypotonie et des diamètres érythrocytaires, en permettant d'évaluer l'âge moyen de la population et d'avoir de ce fait un reflet de la réaction médullaire.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. ALBAHARY (C.). — L'hématie à granulations basophiles (Hématie ponctuée). Discussion des méthodes de recherches valables dans le dépistage du saturnisme. *Sang*, 1953, 24, 5.
2. ALEKSANDROWICZ (J.). — Travaux récents sur la physiopathologie des leucocytes. *Sang*, 1955, 26, 453.
3. ALTMAN (P. L.). — Blood and other body fluids. 1961.
4. ARVY (L.). — Le rôle de la thyroïde dans le conditionnement hormonal de la morphologie sanguine. *Rev. Hématol.*, 1951, 6, 198.
5. ASCHKENASY (A.). — Maladies des globules rouges et désordres endocriniens — Le rôle des glandes endocrines dans l'érythropoïèse. *Sang*, 1952, 23, 94.
6. ASTALDI (G.), MAURI (C.) et SALERA (U.). — Etudes « in vitro » sur la maturation et la prolifération des érythroblastes de l'anémie hypochrome essentielle. *Rev. Hématol.*, 1950, 5, 634.
7. BAGDASSAROV (A.). — Quelques données cliniques et expérimentales sur le rôle régulateur du système nerveux dans l'hématogénèse. *Rev. Hématol.*, 1954, 9, 461.
8. BARER (R.) et GAFFNEY (F. M.). — An erythrocyte spherizing factor in rat and mouse plasma. *Nature*, 1956, 177, 277.
9. BENARD (H.), DANTCHEV (D.) et GAJDOS (A.). — L'hémoglobine alcalino résistante au cours de la polyglobulie expérimentale du lapin. *Sang*, 1954, 25, 266.
- 9 bis. BENARD (H.), DANTCHEV (D.) et GAJDOS (A.). — Sur l'hématopoïétine. *Sang*, 1955, 26, 727.
10. BERNARD (J.). — L'érythro-leucémie expérimentale provoquée par le goudron. *Sang*, 1934, 8, 28.
11. BESSIERES (G.). — Le calcul intégral. 1951.
12. BESSIS (M.). — La méthode de l'ombrage appliquée aux frottis de sang (Mise en évidence du relief cellulaire de certains organites intracellulaires et des mitochondries. Coloration des hématodexies). *Rev. Hématol.*, 1949, 4, 95.
13. BESSIS (M.). — Technique et artifices de la microphotographie en couleurs. *Rev. Hématol.*, 1956, 11, 434.
14. BESSIS (M.). — Hémosidérite et les mouvements du fer dans l'organisme. *Nouv. Rev. Fr. Hématol.*, 1962, 2, 153.
15. BESSIS (M.) et BRETON-GORIUS (J.). — Etude au microscope électronique des granulations ferrugineuses des érythrocytes normaux et pathologiques. *Rev. Hématol.*, 1957, 12, 44.
16. BESSIS (M.) et BRETON-GORIUS (J.). — Ultrastructure du proérythroblaste. *Nouv. Rev. Fr. Hématol.*, 1961, 1, 529.
17. BESSIS (M.) et BRETON-GORIUS (J.). — L'ilôt érythroblastique et la rophéocytose de la ferritine dans l'inflammation. *Nouv. Rev. Fr. Hématol.*, 1961, 1, 569.
18. BESSIS (M.) et THIERY (J. P.). — Les cellules du sang vues au microscope à interférences (système Nomarski). *Rev. Hématol.*, 1957, 12, 518.
19. BEYNE (J.), BINET (L.) et STRUMZA (V.). — Dépression atmosphérique et variations numériques des hématies. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, 115, 1080.

20. BOCAGE (A.). — L'incertitude des numérations hématologiques. *Sang*, 1934, 8, 1025.
21. BOCAGE (A.) et AUBERT (R.). — Le hasard dans la numération des hématies. Technique d'étude expérimentale. *Sang*, 1934, 8, 1028.
22. BOCAGE (A.), FESSARD (M. et Mme A.) et AUBERT (R.). — Le hasard dans la numération des hématies. Premiers résultats expérimentaux. *Sang*, 1934, 8, 1030.
23. BORIN (P.). — A propos des numérations globulaires dites en « série ». *Sang*, 1948, 19, 408.
24. BOSTROM (L.). — La formation des érythrocytes par étranglement du protoplasme des érythroblastes. *Sang*, 1947, 18, 65.
25. BOUSSER (J.). — Etude sérologique et thérapeutique d'un cas de maladie de Marchiafava-Micheli. *Sang*, 1950, 21, 181.
26. BOUSSER (J.), CHRISTOL (D.), DAUSSET (J.), RAMPON (S.), JALLUT (H.), MERY (J. P.). — Episode érythroblastopénique prolongé ayant marqué le début d'une anémie hémolytique chronique avec auto-anticorps. *Sang*, 1955, 26, 804.
27. BRECHER (G.), STOHLMAN (F.) et CRONKITE (E. P.). — Réduction de survie des érythrocytes due à la thrombocytopénie provoquée par des rayons ionisants chez le chien. *Rev. Hématol.*, 1954, 9, 480.
28. BROCCQ (P.) et STEPHANOPOLI (T.). — Observation d'un phénomène de dédoublement des érythrocytes dans le sang de l'homme, conservé hors de l'organisme. *Sang*, 1951, 22, 647 — *C. R. Acad. Sc.*, 1950, 231, 800 — *C. R. Acad. Sc.*, 1951, 233, 325 — *Presse médicale*, 1952, 60, 709.
29. BROCCQ (P.) et STEPHANOPOLI (T.). — Sur le développement et la signification des phénomènes d'anisocytose dans le sang extravasé. Les microcytoses expérimentales. *Sang*, 1951, 22, 654.
30. BROCCQ (P.) et STEPHANOPOLI (T.). — Le bourgeonnement des érythrocytes d'Ammaliens en milieu nutritif. Culture positive du sang de *Exolotl*. *Sang*, 1951, 22, 655.
31. BUNTING (C. H.). — Blood-Platelet and megalokaryocyte reactions in the rabbit. *J. of exper. Med.*, 1909, 11, 541.
32. CALMETTE (A.), BOQUET (A.), NEGRE (L.) et BRETEY (J.). — Manuel technique de Microbiologie et de Sérologie, 1948.
33. CAROLI (J.), ETEVE (J.), PARAF (A.) et ROBINEAU (R.). — L'épreuve du temps d'hémolyse à l'étuve à 37°. *Sang*, 1949, 20, 367.
34. CAZAL (P.). — Le syndrome d'irritation médullaire et son évolution vers l'aplasie. *Sang*, 1948, 19, 527.
35. CAZAL (P.). — Essai sur la pathogénie des anémies méditerranéennes : rôle fondamental de la « platyschizocytose ». Leur place parmi les anémies hémolytiques constitutionnelles. *Sang*, 1951, 22, 619.
36. CAZAL (P.). — Erythrocytes et Erythropathies, 1957.
37. CAZAL (P.) et CAMO (G.). — Le profil érythrocytaire et ses anomalies. Application à l'étude des érythropathies. *Sang*, 1949, 20, 121.
38. CHAMBERLAIN (E. N.) et CORLETT (R. L.). — Cholesterol variations in experimental anaemias. *Brit. J. exp. Path.*, 1932, 13, 299.
39. CHEVALLIER (P.). — Rapport pour servir à la discussion sur la nomenclature des cellules du sang. *Sang*, 1949, 20, 330.
40. CHEYMOL (J.) et HENRY (R.). — La variation des érythrocytes au cours du développement chez le lapin s'accompagne-t-elle d'une modification de la valeur respiratoire du sang ? *Sang*, 1947, 18, 299.
41. CROIZAT (P.), CREYSSEL (R.), PAYEN (P.), CHIPAULT (C.) et BOUDOT (M.). — Données statistiques sur l'évolution de la maladie de Biermer depuis l'introduction de la vitamine B 12 en thérapeutique. *Sang*, 1955, 26, 733.
42. CROIZAT (P.), REVOL (L.), CREYSSEL (R.), BOSSON (P.) et MOREL (P.). — Les anémies ferriprives hypoplastiques. *Sang*, 1951, 22, 100.

43. CROIZAT (P.), REVOL (L.), CREYSEL (R.), MOURIQUAND (C.), MOREL (P.) et GOLHEN (A.). — Le clavier cytologique et chimique des anémies hypochromes. *Sang*, 1958, 29, 427.
44. CUISINIER (A. H.). — La pratique du développement et l'amélioration des négatifs. 1956.
45. CUISINIER (A. H.). — La pratique du tirage. 1955.
46. DAUSSET (J.). — Immuno-Hématologie Biologique et Clinique. 1956.
47. DELACHET (A.). — Les logarithmes et leurs applications. 1960.
48. DEVIGNAT (R.). — Essai d'interprétation statistique de la maturation et de la division des érythroblastes et myéloblastes. Sa formulation dans le système des logarithmes à base 2. *Rev. Hématol.*, 1956, 11, 8.
49. DIACONÓ (H.) et DIACONO (G.). — Technique de détermination de la résistance des hématies aux solutions hypotoniques de chlorure de sodium. *Rev. Hématol.*, 1953, 8, 299.
- 49 bis. DOANFEST (B. S.), LO BUE (J.), HANDLER (E. S.), GORDON (A. S.) et QUASTLER (H.). — Mechanisms of leucocyte production and release. *Acta haemat.*, 1962, 28, 42.
50. DREYFUS (B.). — Les maladies hémoglobinuriques. *Rev. Hématol.*, 1949, 4, 121.
51. DREYFUS (B.), DAUSSET (J.) et VIDAL (G.). — Etude clinique et hématologique de douze cas d'anémie hémolytique acquise avec auto-anticorps. *Rev. Hématol.*, 1951, 6, 349.
52. DREYFUS (J. C.) et SCHAPIRA (G.). — Le fer sérique. *Sang*, 1949, 20, 374.
53. DUMAS (J.). — Les animaux de laboratoire. 1953.
54. DUVOLON (S.). — Contribution à l'étude hématologique du rat blanc normal. Données morphologiques et numériques. *Sang*, 1947, 18, 205.
55. ENSELME (J.), FAVRE-GILLY (J.) et CREYSEL (R.). — A la recherche d'un critère du pouvoir oxyphorétique du sang conservé. *Sang*, 1948, 19, 243.
56. FEISLY (R.) et LUDIN (H.). — Microscopie par contraste de phases, — III - Application à l'hématologie. *Rev. Hématol.*, 1949, 4, 431.
57. FERRARI (R.). — Ricerche sulla formazione della emoglobina nella Rana solata. Nota I. Azione della emoglobina e di alcuni suoi derivati (ematina, ematoporphrina, ferropirrole, pirrole e ferro). *Arch. Scienze biol.*, 1932, 17, 25.
58. FLEURY (P.). — Dosage ferrocoulométrique de l'hémoglobine. Fiches techniques de Chimie Biologique, 1961.
59. FONTES (G.) et THIVOLLE (L.). — Recherches expérimentales sur la thérapeutique de l'anémie grave par carence martiale et notamment par hémorragies. *Sang*, 1934, 8, 560.
60. FONTES (G.) et THIVOLLE (L.). — Recherches expérimentales sur la thérapeutique de l'anémie grave par carence martiale et notamment par hémorragies. *Sang*, 1934, 8, 747.
61. FRUHLING (L.) et ROGER (S.). — Evaluation quantitative de la valeur fonctionnelle de la moelle osseuse. Technique. Résultats. *Sang*, 1948, 19, 305.
62. FRUHLING (L.), ROGER (S.) et SPEHLER (H.). — Contribution à l'étude de la physiopathologie de la moelle osseuse dans la maladie de Biermer. Le problème du mégalo-blaste. *Sang*, 1949, 20, 167.
63. GAJDOS (A.). — Sur certaines différences du mécanisme de l'hémoglobino-génèse dans diverses conditions hématologiques. *Rev. Hématol.*, 1954, 9, 68.
64. GAJDOS (A.) et GAJDOS-TOROK (M.). — Anémie hypochrome hypersidé-rémique expérimentale par intoxication saturnine, fluorée ou oxycar-bonnée du lapin. Mécanisme pathogénique. *Sang*, 1958, 29, 444.
65. GEIGY (J. R.). — Documenta Geigy, Memento scientifique. 1956.

66. GERARD (M. J.). — Sur l'utilité de la numération des réticulocytes chez les radiologues. *Sang*, 1934, 8, 846.
67. GILLON (J. J.). — Liaisons dans les variations de certains éléments de la formule leucocytaire. *Sang*, 1948, 19, 498.
68. GILLON (J. J.). — Contribution à l'étude de la sécurité des estimations faites au moyen des hématimètres. *Sang*, 1951, 22, 23.
69. GILLON (J. J.), GAULTIER (M.) et FABRE (A.). — Etude de la variation relative du nombre des hématies, de celui des leucocytes et du pourcentage des polynucléaires. *Sang*, 1950, 21, 673.
70. GILLON (J. J.), STERBOUL (J.) et FABRE (A.). — Etude critique des numérations hématologiques faites dans trois laboratoires. *Sang*, 1948, 19, 491.
71. GINGOLD (N.). — L'aspect hématologique de la vieillesse. *Sang*, 1958, 29, 328.
72. GIRARD (A.) et ASSOUS (E.). — Possibilité d'évaluer, sans séparation préalable, les fractions libre et estérifiée du cholestérol total. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1961, 43, 1097.
73. GOUNELLE (H.) et CHAUDRE (L.). — L'anémie hypochrome chronique idiopathique. *Sang*, 1934, 8, 1070.
74. GUIARD (J.). — Quelques essais de triage hématologique par la numération photométrique. *Sang*, 1953, 24, 394.
75. GUY (J.). — Eléments de calcul des probabilités et de calcul statistique.
- 75 bis. HARRIS (R. S.), HERDAN (G.), ANCILL (R. J.) et YOFFEY (J. M.). — A quantitative comparison of the nucleated cells in the right and left humeral bone marrow of the guinea pig. *Blood*, 1954, 9, 374.
76. HAUBRICH (R.). — Über den Einfluss der Hämolyse auf Blutgerinnung und Retraktion, Pflügers. *Arch. ges. Physiol.*, 1911, 244, 451.
77. HEILMEYER (L.). — Die Hämolytischen Anämien. *Sang*, 1950, 21, 111.
78. HINDEMITH, HELMUT et LOTHAR MULLER. — Untersuchungen über die Saponin und Saponincollargonämie des Kaninchens. *Arch. exp. Path. u. Pharmacol.*, 1939, 193, 604.
79. ITELSON (J.). — Le problème des lymphocytes. *Sang*, 1952, 23, 240.
80. JACOTOT (H.). — Animaux de laboratoire. 1962.
81. JOBIN et YVON. — Bulletin Instrumental, 26, rue Berthollet, ARCUEIL (Seine), 1955.
82. JOKL (E.). — Blutbild und Sauerstoffmangel (Unter besonderer Berücksichtigung des Sports). *Deutsch. Med. Wochens.*, 1933, 59, 1001.
83. JOLLY (J.). — Traité d'hématologie. 1923.
84. JOURNOUD (R.). — Recherches sur un élément peu connu de l'hématopoïèse : la durée des mitoses des cellules myéloïdes. *Sang*, 1953, 24, 361.
85. JOURNOUD (R.). — La richesse cellulaire de la moelle osseuse. Les données récentes sur ce sujet obligent à une retouche des conceptions classiques de l'hématopoïèse. *Sang*, 1953, 24, 496.
86. JOUY (H.). — Les hématies à granulations basophiles. *Rev. Hématol.*, 1956, 11, 321.
87. KAGAN (A.). — Über die Erythrozytenresistenz im allgemeinen und die Saponinresistenz im besonderer mit besonderer Berücksichtigung der Saponinvergiftung. *Folia Haematol.*, 1913, 17, 211.
88. KOHL (P.). — Etude comparée de la composition chimique du sang de mammifères domestiques et de laboratoire. *Thèse Doctorat Pharmacie*, Paris, 1950.
89. KURODA (K.) et KOMATSU (M.). — Détermination de la sphéricité des globules rouges. *Sang*, 1957, 28, 875.
- 89 bis. LAVERGNE (G. H.). — Sang. Art. 13 000 G 15 in *Encycl. Med. chir.*
90. LAVERGNE (G. H.). — Remarques sur les dépistages par la substitution de la photométrie à la numération directe des hématies. *Sang*, 1953, 24, 537.

91. LAVERGNE (G. H.). — Etude critique des méthodes pour le dosage clinique de l'hémoglobine. *Ann. Biol. Clin.*, 1948, 3, 109.
92. LAVERGNE (G. H.), TROCHARD (B.) et FOURNIER (S.). — Quelques facteurs modifiant la coloration et l'observation des granulations basophiles des érythrocytes ponctués (fond noir). *Sang.*, 1953, 24, 546.
93. LEIBETSEDER (F.). — Recherches caryométriques sur les érythroblastes normaux et pathologiques. *Rev. Hématol.*, 1954, 9, 159.
94. LEULIER (A.) et REVOL (L.). — Précis de Pharmacie chimique. 1948.
95. LEWIS (P. A.). — The influence of temperature on hemolysis in hypotonic solutions. *J. exp. Med.*, 1909, 11, 593.
96. LIORZOU (A.). — Initiation pratique à la statistique. 1961.
97. LISON (L.). — Statistique appliquée à la biologie expérimentale. 1958.
98. LOTTRUP (M. C.). — Recherches sur l'élimination rénale du chlore, de la soude et du potassium, et sur la dose de ces substances dans les globules sanguins. *Sang.*, 1934, 8, 90.
99. MAIER (von C.). — Die klinische Bedeutung der osmotischen und mechanischen Inkubationsresistenz. *Sang.*, 1950, 21, 251.
100. MALLARME (J.). — Les dystrophies érythrocytaires des anémies hémolytiques constitutionnelles. Leur signification et leur spécificité. *Sang.*, 1950, 21, 90.
101. MALLARME (J.). — Hématologie au laboratoire, données et techniques. 1956.
102. MALLARME (J.) et LAVERGNE (G. H.). — Ictère hémolytique acquis avec stigmates hématologiques de l'ictère congénital. *Sang.*, 1950, 21, 628.
103. MALASSIS (D.), PAOLETTI (C.), GUENOT (A.), BOIRON (M.) et TUBIANA (M.). — Etude « in vitro » de la synthèse hémique dans les érythroblastes de la moelle osseuse. *Ann. Biol. Clin.*, 1957, 15, 1.
104. Mc CALL. — 3^e congrès de la Société Internationale d'Hématologie, Cambridge, 1950.
105. MARCHAL (G.) et DUHAMEL (G.). — Le sang. 1961. Première édition.
106. MAS Y MAGRO (F.). — Le système hématopoïétique. *Sang.*, 1948, 19, 617.
107. MAUPIN (B.). — Techniques de séparation des globules blancs. *Rev. Hématol.*, 1959, 14, 256.
108. MICHON (P.), VERAÏN (M.), PICARD (J. M.) et KLING (C.). — Concentration thermique de sérum et de plasma. Applications pratiques. *Sang.*, 1953, 24, 450.
109. MOURIQUAND (C.). — Le sidéroblaste (Etude morphologique et essai d'interprétation). *Rev. Hématol.*, 1958, 13, 79.
110. MOURIQUAND (C.), LEJEUNE (E.), GERMAIN (D.) et MAITREPIERRE (J.). — Le fer médullaire dans les maladies rhumatismales. *Nouv. Rev. Fr. Hématol.*, 1962, 1, 55.
111. MUNK-PLUM (Mme C.). — Etudes sur l'érythropoïèse « in vitro » dans des cultures de moelle osseuse. *Sang.*, 1948, 19, 659.
112. NAEGELI (O.). — Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. 1931.
113. NIZET (A.) et GOVAERTS (J.). — Etude critique des techniques de numération des réticulocytes. Application du calcul des erreurs. *Sang.*, 1947, 18, 466.
114. NOMARSKI (G.). — Du contraste de phase au contraste par interférences. *Rev. Hématol.*, 1957, 12, 439.
115. Ordre des pharmaciens. — Guide pour la rédaction des monographies de la Pharmacopée Française. *Bull.*, 1960, 67, 57.
116. PAPPENHEIM (A.) et SZECSI (S.). — Hämozytologische Beobachtungen bei experimenteller Saponinvergiftung der Kaninchen. *Folia Haematol.*, 1912, 13, 25.
117. PERSONS (E. L.). — *J. Clin. Investig.*, 1929, 7, 615.
118. PIETTE (M.). — Numération directe en cellule hématimétrique des réticulocytes du sang circulant. *Sang.*, 1960, 31, 265.

119. PIETTE (M.) et PIETTE (C.). — Numération des plaquettes sanguines utilisant un liquide hypotonique à base de chorhydrate de procaine. *Sang*, 1959, 30, 144.
120. PINEL (E.) et BOCAGE (A.). — La précision de la formule leucocytaire en fonction de la technique de l'étalement. *Sang*, 1947, 18, 256.
121. PIZON (P.). — Photomacrographie et photomicrographie. 1949.
122. PLUM (C. M.). — Experimental macrocytic anæmia in the rat. *Sang*, 1950, 21, 437.
123. PLUM (R.). — La maturation des réticulocytes. *Sang*, 1948, 19, 540.
124. PONDER (E.). — Hemolysis and related phenomena. 1948.
125. PONDER (E.). — Révision de l'hypothèse selon laquelle l'hémolyse par la digitonine implique uniquement la formation d'un complexe cholestérol-digitonine. *Rev. Hématol.*, 1956, 11, 260.
126. PONDER (E.). — Structure du globule rouge. *Ann. Biol. Clin.*, 1962, 20, 249.
127. PONDER (E.), BESSIS (M.), BRICKA (M.) et BRETON-GORIUS (J.). — Modifications de la surface des érythrocytes par différentes agressions (et particulièrement durant l'agglutination) étudiées par microscopie électronique. *Rev. Hématol.*, 1952, 7, 551.
128. POUMAILLOUX (M.) et GUERITAT (P.). — Recherche expérimentale sur l'action des antibiotiques sur la série blanche. *Sang*, 1955, 26, 947.
129. PRICE-JONES (C.). — The red cells in microcytic anæmia. *J. Pathol. Bact.*, 1932, 35, 549.
130. REVEILLERE (H.) et PIETTE (M.). — Détermination précise du diamètre érythrocytaire par planimétrie sur microphotographie. *Ann. Biol. Clin.*, 1961, 19, 665.
131. REVEILLERE (H.) et REVEILLERE (D.). — Méthode pratique pour la numération des globules rouges. *Ann. Biol. Clin.*, 1958, 16, 645.
132. RIETTI (F.). — Ictères hémolytiques à type macrocytaire avec augmentation de la résistance globulaire. *Sang*, 1950, 21, 195.
133. RINGENBACH (G.). — Qu'est-ce que la « polyglobulie d'altitude » ? Recherches de médecine aéronautique et de la station alpine du Jungfrauoch. *Sang*, 1953, 24, 45.
134. RINGENBACH (G.). — L'érythrogramme couplé veino-capillaire dans l'hypertension artérielle. *Sang*, 1955, 26, 839.
135. SALINGER (J.). — Veränderungen des Blutbildes in Meeresküstenklima. *Deutsch. Med. Wochens.*, 1933, 59, 531.
136. SASLOW (G.). — The effect of washing upon the resistance of erythrocytes to hypotonic solutions. *J. Physiol.*, 1932, 74, 262.
137. SCHAPIRA (G.), DREYFUS (J. C.) et KRUH (J.). — Physiopathologie de l'hémoglobine et du globule rouge étudiée à l'aide du fer radioactif. *Sang*, 1953, 24, 145 et 173.
138. SCHAPIRA (G.) et ROSA (J.). — Problèmes biochimiques posés par le vieillissement et la mort du globule rouge. *Ann. Biol. Clin.*, 1962, 20, 310.
139. SCHREIDER (E.). — La biométrie. 1960.
140. STAUFFER (R.). — La fragilité mécanique érythrocytaire de quelques vertébrés et ses corrélations avec divers facteurs hématologiques et biométriques. *Nouv. Rev. Fr. Hématol.*, 1962, 2, 342.
141. STEFANINI (M.) et CAMPBELL (E. W.). — Studies on platelets — Isolation and purification of the platelet thromboplastic factor ; its physico-chemical and biologic properties « in vitro » and « in vivo ». *Rev. Hématol.*, 1954, 9, 576.

142. STEINBUCH (M.). — Recherches sur l'effet de certains antihistaminiques de synthèse sur la conservation du sang. *Rev. Hématol.*, 1955, 10, 555.
 143. STODMEISTER von R.). — Das Erythroblastenbild bei Eisenmangelanämien und bei aplastischen Anämien, unter besonderer Berücksichtigung der Infektanämien. *Sang*, 1950, 21, 464.
 144. TEITEL-BERNARD (A.). — Sur quelques propriétés physico-chimiques des hématies humaines. La forme biconcave du globule rouge. Essai d'explication physique. *Sang*, 1934, 8, 312.
 145. TZANCK (A.) et BESSIS (M.). — Un nouvel hémodyfractomètre. *Sang*, 1947, 18, 71.
 - 145 bis. VAN DEN BERGHE (L.) et HOFFMAN (J.). — Technique de mensuration des globules rouges. *C. R. Soc. Biol.*, 1945, 139, 766.
 146. VESSEREAU (A.). — La statistique. 1960.
 147. VLADOS (C.). — La transfusion du sang conservé au moyen du sérum I. H. T. Etude clinique. *Sang*, 1934, 8, 770.
 148. VRIES (S. I. de). — Experimental hemolytic anaemia by lysolecithin. *Sang*, 1950, 21, 278.
 149. VRIES (S. I. de). — Recherches sur le rôle de la lysocithine dans le mécanisme de l'hémolyse intravasculaire. *Rev. Hématol.*, 1951, 6, 25.
 150. WEIL (P. E.). — L'hématologie clinique et laboratoire. 1949.
 151. WINTROBE (M. M.). — Clinical Hematology, fourth edition. 1961.
 152. WITTS (L. J.). — The pathology and treatment of anaemia. *Lancet* 1932, I, 405.
-

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS	12
INTRODUCTION	13
GENERALITES	15

PREMIERE PARTIE : PARTIE TECHNIQUE

1° - TECHNIQUES CLASSIQUES

CHAPITRE I : <i>Techniques de numérations directes sur le sang</i> ..	27
— Réticulocytes (première méthode)	
— Plaquettes	
— Leucocytes	
— Hématocrite	
CHAPITRE II : <i>Techniques de numérations indirectes sur le sang</i>	31
— Hématies à granulations basophiles	
— Réticulocytes (deuxième méthode)	
— Sidérococytes	
— Formule leucocytaire	
CHAPITRE III : <i>Etude des constantes érythrocytaires</i>	37
CHAPITRE IV : <i>Etude de la moëlle osseuse</i>	41
— Numération des éléments nucléés	
— Myélogrammes	
— Sidéroblastes	
CHAPITRE V : <i>Dosage de l'hémoglobine</i>	45

2° - TECHNIQUES AYANT FAIT L'OBJET D'UN TRAVAIL PERSONNEL

CHAPITRE VI : <i>Résistance mécanique</i>	51
Fig. 1	53
CHAPITRE VII : <i>Résistance thermique</i>	55
Fig. 2, 3	57
CHAPITRE VIII : <i>Résistance à l'hypotonie</i>	59
Fig. 4	59
Fig. 5	60
Fig. 6	62
Fig. 7	63
Fig. 8, 9	64
Fig. 10	68
Fig. 11	69

CHAPITRE IX : <i>Influence de différents facteurs de la réaction d'hémolyse à l'hypotonie</i>	71
Fig. 12, 13, 14, 15	72
Fig. 16	73
Fig. 17, 18	74
Fig. 19	76
CHAPITRE X : <i>Numération des hématies</i>	85
Fig. 20	87
Fig. 21	88
Fig. 22	89
Fig. 23	97
Fig. 23 bis	98
Fig. 23 ter	99
Fig. 24	100
CHAPITRE XI : <i>Mesure des diamètres érythrocytaires</i>	101
Fig. 25	112
Fig. 26	126

DEUXIEME PARTIE : RESULTATS EXPERIMENTAUX

CHAPITRE I : <i>Eléments normaux et résistance globulaire à l'hypotonie du lapin</i>	129
Fig. 27	145
CHAPITRE II : <i>Diamètre érythrocytaire moyen et courbe normale de Price-Jones du lapin</i>	149
Fig. 27 bis	174
Fig. 28	176
CHAPITRE III : <i>Etude numérique de la moëlle osseuse du lapin normal</i>	179
CHAPITRE IV : <i>Première observation</i>	185
CHAPITRE V : <i>Evolution de l'anémie provoquée par le digitonoside</i>	191
Fig. 29	191
Fig. 30	192
Fig. 31, 32	193
Fig. 33, 34	194
CHAPITRE VI : <i>Régénération sanguine</i>	197
CHAPITRE VII : <i>Seconde observation</i>	203
Fig. 35, 36	204
Fig. 37, 38	205
Fig. 39, 40	206
Fig. 41, 42	207
CHAPITRE VIII : <i>Troisième observation</i>	217
Fig. 43, 44, 45, 46	218
Fig. 47, 48, 49, 50	220

CHAPITRE IX : <i>Quatrième observation</i>	229
Fig. 51, 52, 53, 54	230
Fig. 55, 56, 57, 58	232
CHAPITRE X : <i>Cinquième observation</i>	241
Fig. 59, 60, 61, 62	242
Fig. 63, 64	244
Fig. 65, 66	245
CHAPITRE XI : <i>Sixième observation</i>	253
Fig. 67, 68, 69, 70	254
Fig. 71, 72, 73, 74	256
CHAPITRE XII : <i>Septième observation</i>	263
Fig. 75, 76	264
Fig. 77, 78	265
Fig. 79, 80	266
Fig. 81, 82	267
CHAPITRE XIII : <i>Huitième observation</i>	273
Fig. 83, 84, 85, 86	274
Fig. 87, 88, 89, 90	276
Fig. 91, 92, 93	280
Fig. 94, 95, 96, 97	282
CHAPITRE XIV : <i>Etude des corrélations</i>	287
Fig. 98	296
CONCLUSIONS GENERALES	301
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	309



MICROPHOTOGRAPHIES

Micromètre objectif vu à l'objectif G $\times$ 10	92
Micromètre objectif vu à l'objectif G $\times$ 25	92
Numérations de globules rouges du lapin A (cellule de Thoma) ..	93
Numérations de globules rouges (cellule de Malassez)	93
Lapin normal : Hématies et lymphocyte	102
Micromètre vu à l'objectif $\times$ 40 et $\times$ 60	107
Micromètre vu à l'objectif à immersion G $\times$ 120	108
Objectif G $\times$ 60 - Sang humain avec anisocytose	108
Hématies d'un lapin normal	109
Frottis sang normal objectif G $\times$ 60	125
Numération des hématies (celule de Thoma)	133
Hématies du lapin B avans injections	150
Hématies du lapin C avant injections	153
Hématies du lapin D avant injections	156
Hématies du lapin E avant injections	159
Hématies du lapin F avant injections	162
Hématies du lapin G avant injections	165
Hématies du lapin H avant injections	168
Hématies du lapin J avant injections	171
Numération de globules rouges	186
Hématies du lapin C après injections	225
Hématies du lapin D après injections	235
Hématies du lapin J après injections	249
Hématies du lapin B après injections	259
Hématies du lapin F après injections	269
Hématies du lapin H après injections	281
